

Caracterização físico-química de dois vinhos brancos (Monovarietal Vs Multivarietal) na Adega Cooperativa de Vila Real

Marie-line Carvalho Dos Santos

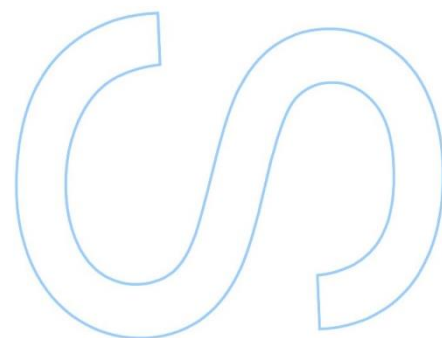
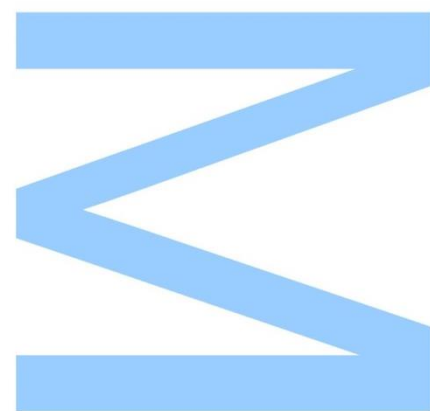
Tecnologia e Ciência alimentar
Departamento de Química e Bioquímica
2018

Orientador

Victor Armando Pereira Freitas, Professor Catedrático, Faculdade de Ciência da Universidade do Porto

Supervisor

Engenheiro José Gomes





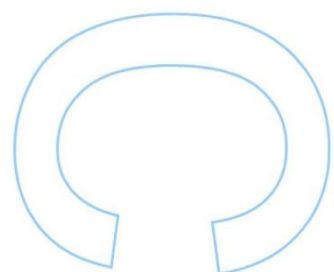
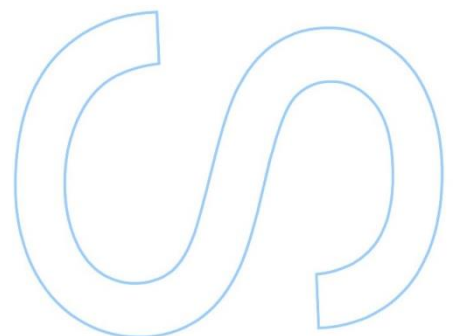
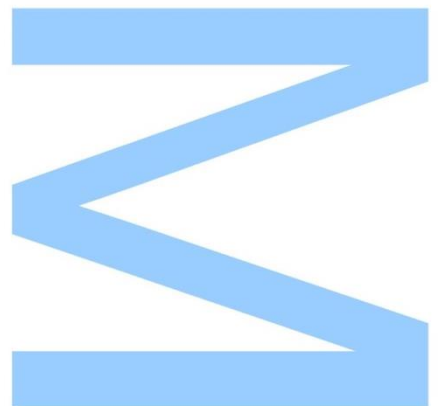
Universidade do Minho
Escola de Engenharia



Todas as correções determinadas
pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Agradecimentos:

Em primeiro lugar queria agradecer a todos os que estiveram ao meu lado e contribuíram de forma direta ou indireta para finalizar com sucesso mais uma etapa da minha vida, após muito esforço, trabalho e dedicação.

Expresso o meu grande agradecimento à Adega Cooperativa de Vila real por me acolher e me orientar durante todo o estágio, um especial obrigado ao enólogo Luís Cortinhas e a enóloga Ana Araújo. Também quero agradecer ao meu orientador Professor Vítor Freitas, pela orientação e disponibilidade prestada desde o início deste trabalho e pela tolerância demonstrada durante a sua realização.

Um enorme obrigada aos meus pais por todo o auxílio ao longo do meu percurso académico, por todo o apoio em tudo mesmo, por nunca desistirem de mim e por todo o carinho demonstrado nos momentos de maior dificuldade. Ao meu irmão, Christophe Santos, por toda a paciência, preocupação, apoio, ajuda e conselhos ao longo destes cinco anos, e por estar sempre presente nos momentos mais difíceis. E claro à minha querida irmã, Joana Santos, por todos os sorrisos e gargalhas tiradas nas horas mais desesperantes, fazendo com que tudo pareça mais fácil.

À Marlene Machado, à Magda Moutinho, ao Francisco Alves e à Maria Gonçalves por toda a preocupação, paciência, palavra de apoio, carinho, incentivo e por todos os bons momentos passados durante estes cinco anos. A Carina Mendes, por estar sempre presente, pela ajuda, disponibilidade, pelo companheiro, preocupação e por todos os momentos de diversão. E não menos importante à Joana Marques por todos os bons momentos passados neste último ano.

À Sofia Cunha, não só pelo fato de ser a minha afilhada académica, mas sim por todos os momentos de companheiro, carinho, incentivos, preocupação e por estar sempre presente. A todos os meus colegas de mestrado, por estes dois anos cheios de bons momentos, à Paula Moreira por todas as conversas, passeios e bons momentos mesmo não estando tão presentes fisicamente. Ao André Esteves por ser o bom amigo que é, um Obrigada.

Resumo:

O vinho é definido como uma bebida alcoólica produzida a partir da fermentação da uva com recurso à utilização de microrganismos. Sendo por isso, o processo de vinificação extremamente complexo e muito dependente de fatores ambientais, da composição e qualidade da uva e também da sua flora microbiana. Assim, as etapas que mais contribuem para as características do vinho, nomeadamente sensoriais, são as fermentações alcoólica e maloláctica, onde ocorre a interação entre todos estes fatores que quando não são controlados, podem originar alterações indesejáveis, e por vezes, irreversíveis.

Ao longo dos anos, a importância das bebidas alcoólicas na sociedade tem vindo a aumentar, nomeadamente o vinho que é uma das bebidas mais consumidas no mundo. Este fato desencadeou um aumento na produção e exportação do vinho, o que provoca a necessidade de um rigoroso controlo de qualidade e segurança alimentar. Neste sentido, as melhores ferramentas para assegurar a conformidade do vinho são as análises físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais. Estas análises permitem a identificação rápida e atempada de defeitos ou problemas e ajudam na melhoria e no controlo da qualidade dos vinhos.

Neste estudo pretende-se analisar as características analíticas (acidez volátil e total, pH, dióxido de enxofre livre e total, teor alcoólico, densidade) de dois vinhos brancos diferentes, uma monocasta e outro multicasta, sendo que houve acompanhamento dos vinhos desde da sua elaboração até ao engarrafamento. Efetuou-se ainda um teste de preferência, com recurso a provas sensoriais, a fim de verificar quais os parâmetros organoléticos testados apresentam diferenças significativas.

Palavras-chave: Vinificação, Vinho branco, Química do vinho, Microrganismos, Análises Analíticas.

Abstract:

Wine is defined as an alcoholic drink, which is product from the fermentation of the grape using microorganisms. Therefore, the winemaking process is very complex and very dependent on environmental factors, composition and quality of the grape as also the microbial flora. Thus, the most important steps for the production of wine for the sensory reference, are the alcoholic and malolactic fermentations, where there is an interaction between these factors and when not controlled, can cause undesirable changes, and sometimes irreversible.

The importance of the alcoholic beverages in society has increased over the years, particularly wine, that is one of the most consumed beverages in the world. This triggered an increase in production and export of the wine, which causes the need for strict control of quality and food safety. In this sense, the best tools to ensure compliance of the wine are the physical, chemical, microbiological and sensory. These analyzes allow the rapid and timely identification of faults or problems and help in improving and controlling the quality of the wines.

In this study we intend to analyze the analytical characteristics (volatile acidity and total pH, total and free sulfur dioxide, alcohol content, density) of two different white wines of a single variety and another from different varieties and were monitored from its development until bottling. A preference test was also carried out using a sensorial evaluation, in order to verify which organoleptic parameters tested showed the differences.

Índice

1. Fundamentos Teóricos	1
1.1 Aspetos gerais sobre a história do vinho e a sua produção em Portugal	2
1.2 Adega Cooperativa de Vila Real	4
1.3 Processos de Vinificação	7
1.3.1 Vinho Branco e Rosé	8
1.3.2 Vinho Tinto	12
1.3.3 Vinho do Porto	16
1.3.4 Vinho Espumante	19
1.4 Segurança Alimentar em Vinificação	25
1.5 Microbiana da Uva	28
1.6 Composição da uva e os seus principais compostos	37
1.6.1 Compostos Fenólicos	40
1.6.1.1 Compostos Flavonoides	41
1.6.1.1.1 Antocianinas	42
1.6.1.1.2 Flavanóis	46
1.6.1.1.3 Flavonóis	49
1.6.1.2 Compostos não Flavonóides	50
1.6.1.2.1 Ácidos benzoicos	50
1.6.1.2.2 Ácidos hidroxicinamil tartáricos	52
1.6.2 Compostos Voláteis	54
1.6.2.1 Compostos Terpénicos	56
1.6.2.2 Norisoprenóides	57
1.6.2.3 Ésteres	59
1.6.2.4 Álcoois	60
1.6.2.5 Ácidos Carboxílicos	60
1.6.2.6 Aldeídos e Cetonas	61
1.6.2.7 Compostos de enxofre	62
1.6.2.8 Compostos Fenólicos voláteis	63
1.6.2.9 Lactonas	63
1.6.2.10 Furanos	64
1.6.3 Taninos	64
1.6.4 Ácidos Orgânicos	65
1.7 Vinhos Monocasta e Multicasta	66
1.8 Análise Sensorial	67
2. Materiais e Métodos	69

2.1	Amostras	70
2.2	Métodos para a determinação dos parâmetros físicos-químicos.....	70
2.2.1	Densidade	70
2.2.2	Teor Alcoólico.....	71
2.2.3	pH.....	73
2.2.4	Acidez Volátil	75
2.2.5	Acidez Total.....	76
2.2.6	Sulfuroso Total e Livre	77
3	Resultados e Discussão	81
4	Conclusão.....	88
	Bibliografia	90
	Anexos	100

Índice de figuras

Figura 1. Adega Cooperativa de Vila Real.	4
Figura 2. Gama dos produtos da Adega de Vila Real.	6
Figura 3. Fluxograma de produção de vinho branco. ¹⁶	9
Figura 4. Fluxograma de produção de vinhos tinto. ¹⁶	13
Figura 5. Processo de vinificação do vinho do Porto. ¹⁸	16
Figura 6. Fluxograma de produção do vinho espumante. ²⁰	20
Figura 7. Tipos de leveduras de contaminação do vinho. ⁵⁵	32
Figura 8. Estrutura química dos Flavonoides ⁷⁴	41
Figura 9. Estrutura das antocianinas mais comuns encontradas nas Vitis Vinífera ⁷⁴	43
Figura 10. Equilíbrio das antocianinas em função do pH. ⁸⁵	45
Figura 11. Estrutura químicas dos principais flavan-3-óis presentes no vinho e na uva. ⁷⁴	47
Figura 12. Principais estruturas químicas das procianidinas ⁷⁴	48
Figura 13. Estrutura química dos flavanóis no estado livre. ⁷⁴	49
Figura 14. Estrutura química do Ácido benzoico. ⁹²	51
Figura 15. Estrutura química do ácido cinâmico e dos seus derivados. ⁷⁴	52
Figura 16. Fórmula geral dos ácidos hidroxycinamiltartáricos. ⁹⁵	53
Figura 17. Potencial aromático da uva. ¹⁰³	55
Figura 18. Estrutura do isopreno. ⁷⁴	56
Figura 19. Principais monoterpenóis encontrados nas uvas brancas. ⁷⁴	57
Figura 20. Degradação dos carotenoides conduzindo a formação de norisoprenóides em C ₉ , C ₁₀ , C ₁₁ e C ₁₃ . ⁷⁴	58
Figura 21. Compostos mais abundantes nos vinhos: a) β -damascenona; b) β -ionona; c) TDN; d) vistirano. ⁷⁴	58
Figura 22. Fórmula geral dos ésteres. ⁷⁴	59
Figura 23. Álcoois aromáticos presentes nos vinhos. ⁷⁴	60
Figura 24. Formula geral dos ácidos carboxílicos. ⁷⁴	61
Figura 25. Formula geral a) cetona b) aldeído. ⁷⁴	62
Figura 26. Unidades estruturais dos taninos hidrolisáveis a) Ácido gálico b) Ácido elágico. ⁷⁴	64
Figura 27. Estruturas químicas dos principais ácidos presentes nas uvas. ¹³⁰	65
Figura 28. Utensílio usado para a conversão em percentagem de etanol.	73
Figura 29. Ebuliómetro	73
Figura 30. Potenciómetro	74
Figura 31. Destilador Cazenave-Ferré.	75
Figura 32. Formula da acidez volátil	76
Figura 33. Perfil sensorial dos vinhos em análise	84
Figura 34. Resultados referentes a todos os atributos analisados pelo Teste t de Student.	85
Figura 35. Percentagem das amostras preferidas.	86

Índice de Tabelas

Tabela 1. Tipos de vinho espumante.....	24
Tabela 2. Leveduras responsáveis por problemas nos vinhos ^{16,34}	35
Tabela 3. Teores médios constituintes essenciais do vinho. ⁷²	39
Tabela 4. Resultados das análises analíticas.	82

Lista de Abreviaturas

FML: Fermentação Maloláctica

HACCP: Sistemas de análise de perigos e pontos críticos de controlo

SGSA: Sistema de gestão da segurança alimentar

EUA: Estados Unidos da América

BAL: Bactérias do ácido láctico

g: Gramas

g/L: Gramas por litro

mL: miligramas

1. Fundamentos Teóricos

1.1 Aspetos gerais sobre a historia do vinho e a sua produção em Portugal

A evolução do vinho, tem acompanhado a civilização há já milhares de anos, sendo que este está completamente ligado à história da agricultura, cozinha e humanidade.¹ Segundo o Instituto da Vinha e do Vinho, o vinho acompanhou os primeiros momentos da história da humanidade, desde dos tempos mais remotos até aos dias atuais, sendo que tanto a cultura de vinha como o vinho têm desempenhado um papel muito marcante ao longo de todas as civilizações. A sua origem ainda é muito controversa, no sentido que não se sabe onde surgiu e nem quem foi o inventor, ou seja, o momento em que o Homem bebeu pela primeira vez o vinho ainda é uma completa incerteza. No entanto, através de vestígios arqueológicos é possível apontar que a produção de vinho remonta a 6009 a.C., nas regiões de Cáucaso e Mesopotâmia.² Sabe-se que foi nas planícies da Suméria e nas margens do Nilo que inicialmente se desenvolve a viticultura, sendo que foi no último período da Era Terciária em que surgiu a videira. O vinho chegou ao continente europeu por intermédio dos Fenícios e dos Gregos, sendo que apenas mais tarde é que houve a cultura de vinho na Europa central devido a ocupação romana. Podendo assim se afirmar, que as vinhas francesas são de origem romana, as italianas de origem grega e as espanholas de origem fenícia.³

Em relação a Portugal, não se tem a certeza quando surgiu o vinho, mas consta-se que foi no ano 2000 a.C., sabe-se que as primeiras vinhas tenham sido cultivadas pelos Fenícios.⁴ Foi com a instalação dos Gregos na Península Ibérica que houve um aumento das vinhas e consequentemente começou a haver um desenvolvimento na viticultura. Contudo, foram os romanos que colaboraram para a modernização das vinhas, o melhoramento de cercas técnicas de cultivo, tal como a poda e também com a introdução de novas variedades de uvas. O vinho tornou-se indispensável para os cristãos no ato da comunhão, nos séculos VI e VI d.C., é nos séculos XII e XIII confirma-se a importância do vinho e das vinhas nos territórios portugueses, havendo assim o alargamento das áreas de cultivo da vinha. Após os Descobrimentos, os vinhos portugueses eram levados nas naus e nas caravelas que comercializavam os produtos trazidos do Oriente e do Brasil. Sendo que graças a essas viagens, que se aperceberam que o vinho envelhecia de forma suave proporcionada pelo calor dos porões e pela sua permanência dele nos túneis. Então, surgiu o conhecimento empírico de um certo tipo de envelhecimento poderia ser favorável para o vinho, que se comprovou mais tarde com técnicas científicas.⁴

Após isto, a viticultura sofre a influência de Marquês de Pombal que beneficia assim outras regiões, mas principalmente a região do Alto Douro, surgindo a Companhia Geral da Agricultura das Vinhas do Alto Douro.⁵ Esta tinha como objetivo controlar a produção e o comércio dos vinhos por região, presumindo a necessidade de se fazer a demarcação de região. Atualmente, estão reconhecidas e protegidas 32 Denominação de Origem e 8 Indicações Geográficas, no território português. Posto isto, pode-se afirmar que os vinhos portugueses são resultados de uma sucessão de tradições introduzidas por diversas civilizações, tais como os fenícios, gregos e sobretudo os romanos.³

Atualmente, as produções de vinho são mais controladas que nos tempos mais remotos, podendo assim identificar os clones de videiras ou até mesmo escolher a levedura mais adequada para o vinho desejado. Pode-se também selecionar o tipo de casta que melhor se adapta no terreno para uma maior produtividade. A colheita conta com a ajuda de máquinas, barricas de carvalho, taninos e ácidos enológicos que fazem parte do arsenal à disposição do produtor, e este, por sua vez podem contar com a consultoria internacional de produção de vinho. A *Vitis vinífera*, é a principal espécie de uva utilizada na produção de vinho e também na produção em massas.⁶

Segundo o Instituto da Vinha e do Vinho⁷, em Portugal existem diversas cooperativas, igualmente com grandes empresas, apesar que, nos últimos anos houve um crescimento a nível dos pequenos produtores independentes. A qualidade dos vinhos, são uma das características que fazem dos vinhos portugueses uma referência entre os principais países produtores. As vinhas de Portugal representam cerca de 9% do total da União Europeia, sendo a quarta maior superfície depois da Espanha (com cerca de 30%), da França (com cerca de 25%) e da Itália (com cerca de 19%). Segundo o Instituto da Vinha e do Vinho⁷, o nível de produção deve crescer cerca de 10% em relação ao ano de colheita anterior, para um total de cerca de 6,6 milhões de hectolitros. A nível da produção mundial de vinho, irá cair cerca de 8,2% este ano, sendo dos resultados mais baixos dos últimos 50 anos, isto deve-se as condições meteorológicas desfavoráveis. Esta baixa da produção deve-se sobretudo ao facto dos 3 maiores produtores, França, Espanha e Itália, terem tido uma grande queda na produção. Contudo, o vinho é uma das bebidas alcoólicas mais consumidas no Mundo podendo isso justificar o aumento da produção mundial, que se verifica ao longo dos anos e do número de países produtores como igualmente na diversidade de vinhos existentes no mercado. É também de destacar que na produção de vinho existem muitos fatores que condicionam o volume de vinho produzido como também a

qualidade do produto final, tais como a região de produção, a cultura da vinha, as castas e os processos de produção do vinho. ⁸

1.2 Adega Cooperativa de Vila Real

A Adega Cooperativa de Vila Real, também conhecida como “Adega de Vila Real”, tem vindo a destacar-se nestes últimos anos no mercado de produção de vinhos pela sua excelência e qualidade. Esta empresa é considerada impulsionadora e importante no desenvolvimento agrícola, por ser das poucas que ainda se consegue estacar fora da Região Demarcada do Douro. Atualmente, esta Adega é uma referência da Região Demarcada do Douro a nível nacional e internacional, em que apresenta vinhos do Douro com uma excelente relação de qualidade/preço.

Situado na Região Trás do Montes e Alto Douro, Vila Real, tem uma ligação antiga com a cultura da vinha, produção e comércio do vinho. Esta é uma empresa produtora de vinhos do Douro e do Porto, sendo que o seu investimento, passou deste cedo, pela produção de vinho de marca própria. Através da análise de um documento interno fornecido pela Adega, foi possível ficar a conhecer de forma mais aprofundada a história desta empresa, que atualmente contam com cerca de 1570 sócios. ⁹

A fundação desta Adega remonta ao ano de 1955, sendo nesta época em que se incentivou a produção e o consumo do vinho. Ao contrário da maioria de Adega Cooperativa existente que tem orientações e agregações de produção vitícola dos associados, está encarregada apenas da vinificação, para posterior vender do produto a granel. Por sua vez, a Adega de Vila Real destaca-se por apostar na venda do seu vinho engarrafado com marca própria. ⁹



Figura 1. Adega Cooperativa de Vila Real.

Nos anos 60, ganhou notoriedade a nível nacional, principalmente pelos prémios que conseguiu ganhar, por diversas vezes, nos concursos promovidos pela Junta Nacional do Vinho. Esta crescente notoriedade permitiu à Adega desenvolver a sua rede de distribuição, alcançando assim os principais centros urbanos do litoral. Foi na década de 70 que Adega conseguiu dar o seu primeiro grande salto a nível do comércio, devido a fama que foi adquirido ao longo da década anterior. No decorrer dos anos 80 tudo se manteve inalterado até ao ano de 1989, devido a renovação por completo da sua imagem e todo o portfólio dos seus produtos, coincidindo também com a entrada nas grandes superfícies comerciais. Contudo, esta renovação foi tão grande e repentina que acabou por trazer certos problemas uma vez que, nos primeiros tempos, o mercado não aceitou na melhor forma esta mudança total.¹⁰

Após isso, em 1993, iniciou-se o processo de construção de novas instalações, sendo que estas estariam concluídas em 1994, isto permitiu renovar o edifício contruído entre 1939 e 1942. Desta forma, a Adega conseguiu responder às exigências do mercado e continuar a desenvolver e melhorar o seu produto. Os responsáveis na altura pela Adega, decidiram recorrer aos fundos comunitários, sendo que o investimento feito foi cinco vezes superior à faturação anula da Adega, que era cerca de um milhão de euros. Este investimento trouxe graves problemas, levando mesmo a que esta entrasse em falência técnica. Apesar destas dificuldades, o Adega conseguiu, com a ajuda de um novo presidente, que ainda hoje se mantém no cargo, recuperar lentamente e voltar a crescer no mercado nacional.¹⁰

Em 2007, com a renovação da equipa de enologia foi possível implementar a estratégia pretendida e impulsionar a performance da Adega. Começou a produzir vinhos desenvolvidos com os padrões de consumo dos consumidores, apelativos devido à imagem renovada e ao fator de qualidade/preço. Em 2009, esta empresa sentiu que tinha as condições necessárias para iniciar o processo de venda internacional, iniciando assim um plano estruturado de exportações e a promoção internacional dos seus vinhos nas principais feiras e eventos internacionais de vinhos. Desta forma, a Adega começou também a crescer nos mercados internacionais.

A Adega de Vila Real, nestes últimos anos corresponde aos seus melhores anos em relação ao número de vendas, desde da sua criação em 1955. A cerca de três anos atras, em 2015, a Adega iniciou a construção de um novo edifício, próximo das instalações atingas com o objetivo de armazenar os produtos secos e acabados, tal como todas as operações de enchimento e estabilização de vinhos. Isto aconteceu graças ao crescente rigor das normas intencionais. Recente, nas novas instalações foi

construiu um novo laboratório, a fim de melhorar a qualidade e todo o processo do vinho.

Produtos e prêmios da Adega:

Atualmente, os vinhos de referência da Adega são os vinhos “Adega de Vila Real”, como se pode verificar na figura abaixo (Fig. 1). Os vinhos desta marca dividem-se nos “Vinhos do Porto”, “Colheita”, “Reserva”, “Vinhos dos Altos-Espumantes” e o “Grande Reserva”.



Figura 2. Gama dos produtos da Adega de Vila Real.

Os vinhos “Colheita” e “Reserva” são os vinhos mais procurados devido à sua qualidade aliada a um preço competitivo. O vinho “Grande Reserva” é um vinho de mesa destinado a um público mais específico e mais exigente, disposto assim a suportar um preço mais elevado. A Adega possui ainda outras marcas, como “Cancellus” e “Cancelão”, sendo estas duas marcas menos procuradas, que se encaixam na categoria de vinho “Reserva”. Esta empresa, possui também um vinho com a marca “Terras de Alleu” que é de todas as marcas comercializadas, a que tem um preço mais acessível.

Fruto da conciliação entre uma constante aposta na melhoria dos vinhos produzidos e uma estratégia de venda adequada, têm sido consecutivos os prêmios

de relevo nacional e internacional que a Adega Cooperativa de Vila Real conquistou nos últimos anos da sua atividade. Entre esses destacam-se:

- Melhor vinho Branco no concurso Mundial de Bruxelas, 2009 ¹¹;
- Vinho Branco de Blend com melhor relação qualidade preço no Canadá, no Internacional Value Wine Awards of Canada, 2014 ¹²;
- Adega Cooperativa do Ano, atribuída pela revista de Vinhos em 2012 ¹³.

1.3 Processos de Vinificação

Segundo o Instituto da Vinha e do Vinho, “O vinho é o produto obtido pela vinificação/fermentação alcoólica, total ou parcial de uvas frescas, provenientes de vários tipos de castas (*Vitis Vinifera*), cujos bagos são esmagados, prensados ou transformados por outros processos tecnológicos permitidos por lei. O vinho é composto por: água (mosto); álcool etílico (açúcar); ácidos orgânicos fixos (ácido tartárico); ácidos orgânicos voláteis (ácido acético); ácidos minerais; sais ácidos; glicerina (que confere a macieza e o aveludado); taninos (conferem a adstringência); matéria corante (cor); matérias minerais e matérias azotadas; vitaminas; a bebida adequada ao consumo, apresenta aromas frutados, perfumados e diversos outros bouquets.”

De um modo geral, pode-se afirmar que o processo de vinificação corresponde ao conjunto de operações mecânicas que levam à formação do vinho. Este processo ao longo dos anos tem sofrido uma grande evolução para poder acompanhar o ritmo de produção e do consumo. Por isso, as máquinas têm evoluído com o propósito de tornar o processo mais rápido e menos dependentes de mão-de-obra. ^{6,14}

A Adega Cooperativa de Vila Real faz a vinificação a cada campanha com as uvas provenientes dos seus associados e também as suas, visto que possui algumas vinhas ao lado das suas instalações. Planeia a sua produção de acordo com a qualidade, pelo tipo de castas da uva vindimada, bem com a tendência do mercado.

1.3.1 Vinho Branco e Rosé

Tal como já foi descrito anteriormente, a Adega de Vila Real produz vários tipos de vinho brancos: vinho de mesa, vinho de colheita e vinho DOC. Os vinhos rosés a uva utilizada e uva tinta, o processo de fabrico é muito semelhante à produção de vinho branco, o que faz com que este vinho não tenha as características tão acentuadas de um vinho tinto. Todavia as características organoléticas associadas a estes vinhos diferem consoante as castas utilizadas no processo.

Porém, estes vinhos também apresentam algumas diferenças ao nível das operações tecnológicas. Na figura 3 está descrito o processo de fabrico do vinho branco, as etapas mais importantes. ¹⁵

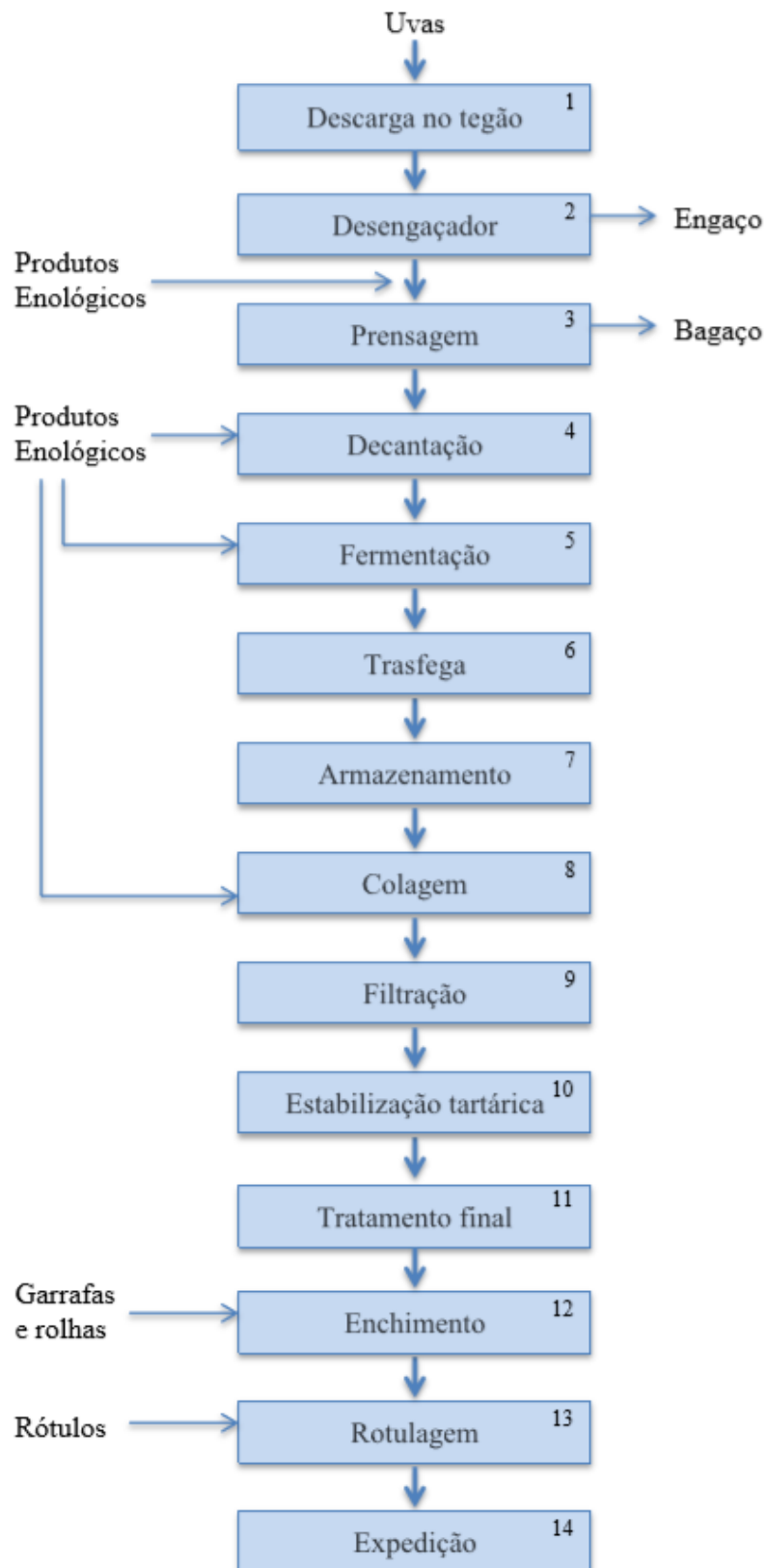


Figura 3. Fluxograma de produção de vinho branco. ¹⁶

- **Descarga no tegão:** Na receção da uva ocorre o primeiro controlo de qualidade para a produção de vinho. Este controlo vai definir a ordem de descarga e o tipo de vinho a que as uvas vão dar origem, este baseia-se no grau alcoólico provável e no peso das uvas. Conjuntamente baseia-se no resultado da inspeção visual á presença de corpos estranhos e do estado sanitário das uvas.
- **Desengaçador:** Após a descarga no tegão, as uvas sofrem um processo de desengace, que consiste na remoção da parte lenhosa do cacho. Depois sofrem um processo de esmagamento para quebrar a película da uva e promover o arejamento, sendo que isto facilita a multiplicação de leveduras. Os vinhos são trasfegados para depósitos onde são mantidos a temperaturas entre 14º e 16ºC. Adiciona-se polpa de SO₂ para proteção de contaminações microbianas e de enzimas de extração aromáticas, e adiciona-se ácido tartárico até pH 3.3-3.4.
- **Prensagem:** As massas seguem para as prensa, de onde se vai obter uma primeira fração de mosto. A prensa é feita com recurso a uma prensa de impulsão, no caso dos vinhos de mesa, ou pneumática, para vinhos regionais e DOC. Nesta fase, pretende-se a libertação do sumo separando-o das películas e grainhas. É um processo delicado para que as grainhas e as películas não sejam quebradas nem rompidas, para não haver a sua incorporação no mosto.
- **Decantação:** A decantação consiste na sedimentação das borras do mosto, sendo que a velocidade de sedimentação é inversamente proporcional á viscosidade, ou seja, quanto menos viscoso for o mosto, mais rápida é a sedimentação das partículas. De forma a melhorar a eficácia da decantação, são adicionadas enzimas pectolíticas ao mosto. Estas enzimas provocam a cisão das longas cadeias de pectina, diminuindo a viscosidade do mosto, facilitando a agregação e sedimentação das borras. Após o mosto ficar despectinizado e sofrer o processo de decantação a uma temperatura baixa, entre os 8-10ºC, remove-se o líquido sobrenadante que deverá estar clarificado, sendo fundamental para obtenção de vinhos brancos, limpos ao nível olfativo e em excelentes condições para dar inicio á fermentação. Após este processo a fração de mosto com partículas sólidas, impurezas, é filtrado num filtro rotativo sob vácuo e vai para cubas de inox onde vai fermentar sob condições de refrigeração. Nesta fase, faz-se uma análise pré-fermentativa, ou seja, verifica-se o sulfuroso livre e total, o pH, a acidez total, a densidade e temperatura, o álcool provável e o azoto assimilável.

Esta etapa, pode também ser chamada de flotação, em que tem a mesma finalidade da decantação, mas o processo é diferente. Realiza-se na mesma após a prensagem, o mosto sofre um processo de flotação que consiste na separação do mosto da borra, ou seja, dos sólidos em suspensão e depositados que, para além de dificultarem o processo de vinificação, também podem ser responsáveis por características organoléticas indesejáveis. Nesta fase adiciona-se gelatina alimentar que serve como clarificante do mosto e eleva-se a temperatura até aos 20°C, durante 1 hora, facilitando assim agregação das partículas em suspensão (de menor dimensão) e consequentemente a sua eliminação. Após esta etapa, o mosto é arrefecido para manutenção dos aromas e impedir uma fermentação prematura.

- **Fermentação:** A fermentação é um processo natural de transformação dos açúcares das uvas em etanol. Estando o mosto em condições para tal, faz-se uma inoculação utilizando fermento com leveduras secas ativas. Durante a fermentação, é feita uma medição das densidades e temperaturas dos mostos, de forma a observar quando esta termina. A seguir a isto, quando o valor da densidade se situa nos 995 g/L, nos últimos três dias, indica que a fermentação alcoólica terminou. A temperatura de refrigeração ideal para uma fermentação que origine aromas secundários deve ser inferior ou igual a 18°C, dura 10 a 15 dias.
- **Trasfega:** Processo de transferência do vinho para um novo depósito, após a fermentação alcoólica, o vinho é transferido para um depósito de armazenamento mantido a temperatura entre 15-17°C. Depois, é novamente trasfegado permitindo a remoção das partículas que se encontram no fundo – borras. É imprescindível que o vinho não esteja em contacto com o ar de modo a evitar a oxidação. Assim, para impedir que tal ocorra deve-se atestar o depósito com vinho do mesmo lote ou da mesma qualidade. Este processo tem como objetivo a clarificação progressiva do vinho, a eliminação de dióxido de carbono resultante da fermentação, a incorporação de oxigénio e a eliminação de aromas de reduzido.
- **Armazenamento:** Nesta fase o vinho é armazenado em cubas de inox.
- **Colagem:** De seguida são feitas colagens, com a adição de produtos enológicos, tais como gelatina, bentonite, entre outros. A colagem consiste em remover o excesso de alguns constituintes, clarifica o vinho, torna a clarificação estável ao longo do tempo e melhora as características sensoriais do vinho.

- **Filtração:** A filtração tem como propósito a eliminação de impurezas em suspensão, e um processo de separação de partículas em suspensão num líquido, em que este é forçado a atravessar a camada filtração é feita utilizando um filtro de terras.
- **Estabilização tartárica:** Faz-se a estabilização tartárica, de forma a eliminar o bitartarato de potássio, responsável pela cristalização.
- **Tratamento Final:** O vinho fica em estágio até ser utilizado para fazer o tratamento final.
- **Enchimento:** Nesta fase o vinho está pronto a ser engarrafado, em que vai para a linha de enchimento.
- **Rotulagem:** Logo após o enchimento, as garrafas podem ser imediatamente rotuladas, onde é necessário a presença dos rótulos adequados. No entanto, há garrafas que podem não ser logo rotuladas, sendo colocadas em estágio até ser pretendida a sua utilização.
- **Expedição:** Depois das garrafas rotuladas e encaixotadas, estas estão prontas a ir para expedição, ou seja, vão para venda até ao consumidor final.

1.3.2 Vinho Tinto

Tal como no vinho branco, o vinho tinto a Adega produz vários tipos tais como, vinho de mesa, vinho de colheita e vinho DOC. As características organoléticas associadas a estes vinhos diferem consoante as castas utilizadas no processo.

Estes vinhos também apresentam algumas diferenças ao nível das operações tecnológicas. Na figura 4 está descrito o processo de fabrico do vinho tinto, as etapas mais importantes que correspondem, normalmente, ao processo deste vinho. ¹⁵

Ao analisar o processo do vinho branco e do vinho tinto, pode-se levar a concluir que a principal diferença é que no vinho tinto a fermentação alcoólica ocorre antes da prensagem e, ao contrário do que acontece no vinho branco, ocorre com arejamento controlado e com contacto com as películas e a grainhas das uvas (fermentação com curtimento) para extração da cor. ^{15,17}

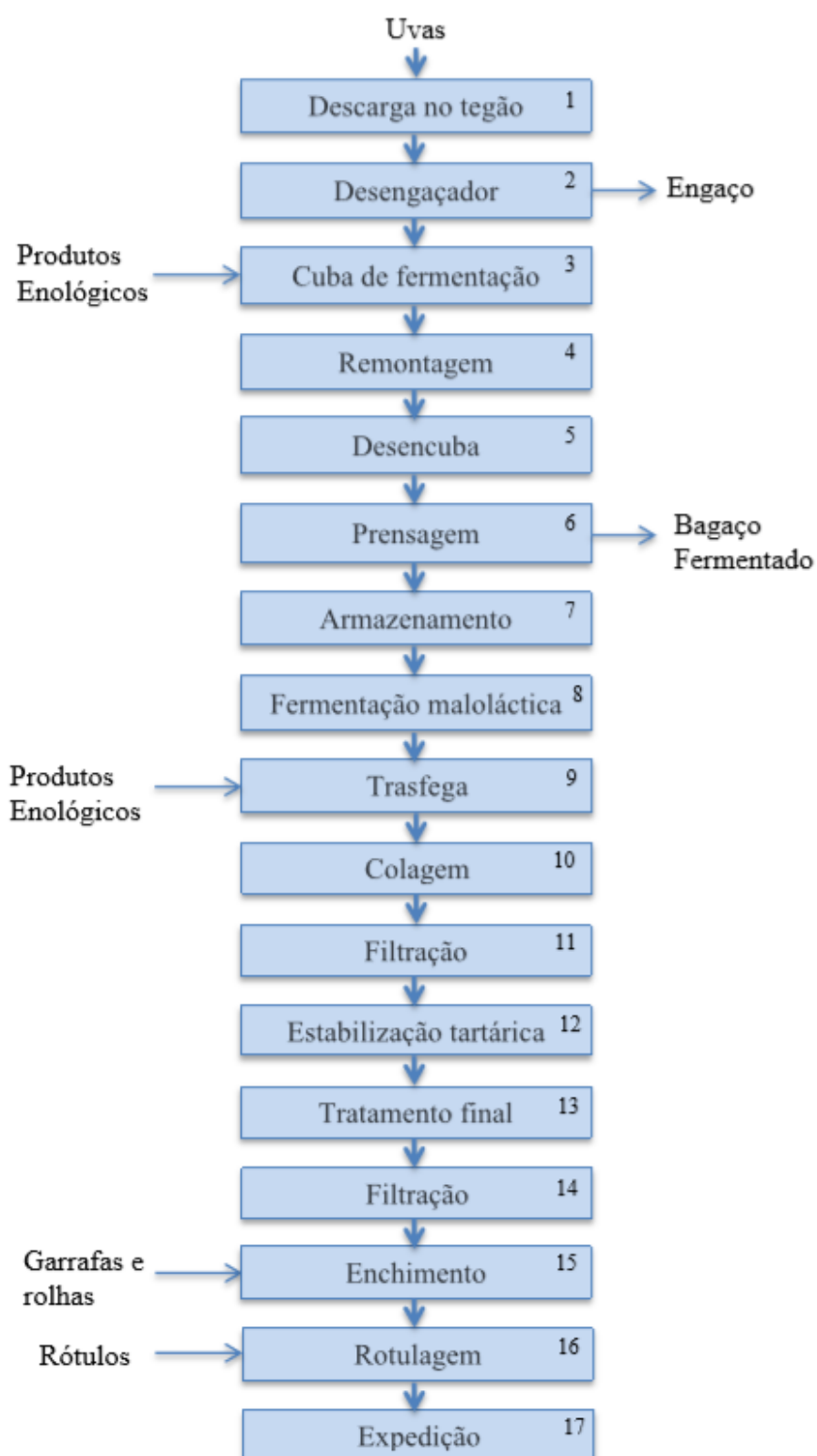


Figura 4. Fluxograma de produção de vinhos tinto. ¹⁶

As duas primeiras etapas, descarga no tegão e desengaçador, são iguais as duas primeiras etapas da produção de vinho branco, e realizam-se de igual modo. Estas etapas, já foram descritas anteriormente.

- **Cuba de fermentação:** Após a descarga no tegão, as massas seguem diretamente para os depósitos onde são adicionados os produtos enológicos, nomeadamente enzimas, nutriente e tanino. Nesta fase faz-se também a análise pré-fermentativa, determinando-se a quantidade de sulfuroso livre, sulfuroso total, pH, acidez total, densidade e temperatura que por sua vez indica o valor do álcool provável. Em alguns mostos, nomeadamente os que conferem melhores características, são adicionadas aparas de madeira de forma a enriquecer ainda mais os vinhos. No mesmo dia em que os depósitos enchem é feita a inoculação dos mesmos, visto que nas uvas tintas a fermentação é quase espontânea. Nesta fase o tempo de maceração/fermentação é importante, visto que quanto maior for o tempo de contacto entre o mosto e as partes sólidas, melhores vão ser as características a nível de cor, aroma e sabor nos vinhos.
- **Remontagem:** Durante a maceração/fermentação é feita a remontagem, que consiste em movimentar o mosto por bombagem, com aspiração da parte inferior e elevação pela parte superior da cuba. A remontagem, durante a fermentação, é feita de 3 em 3 horas.
- **Desencuba:** Tal como nos mostos brancos, o controlo de densidade e temperatura é necessária na fermentação dos tintos. No entanto, a temperatura de fermentação neste caso pode ser igual ou inferior a 30°C, e assim que a densidade atingir o valor de 995 g/L a fermentação está concluída. Nesta fase há condições para se proceder á desencuba.
- **Prensagem:** Após a desencuba faz-se uma prensagem, cujas massas resultantes desta se denominam de bagaço fermentado e o vinho segue para o armazenamento.
- **Armazenamento:** O vinho é armazenado em depósitos, onde vai ocorrer a fermentação maloláctica.
- **Fermentação Maloláctica:** A fermentação maloláctica pode ser induzida através da estimulação de bactérias indígenas, que se encontram nas borras resultantes da fermentação alcoólica, ou com a utilização de inóculos bacterianos, que

enriquecem o vinho com bactérias lácticas e asseguram a regular degradação do ácido málico. No início as bactérias lácticas crescem, no entanto, estas são inibidas pelas leveduras e pelo sulfuroso que é adicionado. Uma vez concluída a fermentação, vai haver uma diminuição global da população das leveduras. Nesta fase, o equilíbrio entre as condições de nutrição e a toxicidade do meio vai permitir o desenvolvimento das bactérias lácticas.

- **Trasfega:** No fim deste última fermentação o vinho é trasfegado e são introduzidos produtos enológico.
- **Colagem:** Após a trasfega são feitas as colagens necessárias.
- **Filtração:** Posteriormente procede-se a filtração.
- **Estabilização tartárica:** Após a filtração, é possível proceder á estabilização tartárica do vinho.
- **Tratamento final:** Nesta fase o vinho está pronto a levar o tratamento final.
- **Filtração:** Após o tratamento final, o vinho é filtrado num filtro de placas, que para além de filtrar o vinho também o esteriliza.
- **Enchimento:** O vinho encontra-se pronto a seguir para a linha de enchimento.
- **Rotulagem:** Tal como nos brancos, as garrafas podem ser imediatamente rotuladas ou podem ser posteriormente, ficando em estágio até lá.
- **Expedição:** Após as garrafas prontas e colocadas em caixas, podem seguir para a venda até ao consumidor final.

1.3.3 Vinho do Porto

O vinho do Porto apresenta características particulares e únicas, sendo um vinho licoroso e aromático. Em que este último é conferido pelo processo de vinificação, em que este é diferente do processo do vinho comum, nomeadamente pelo tempo de fase da fermentação e pela adição de aguardante que confere uma elevada graduação alcoólica. O processo de vinificação deste vinho engloba as seguintes etapas: receção e descarga no tegão, desengace e esmagamento das uvas, maceração, fermentação alcoólica, aguardentação, prensagem, trasfegam, lotação, clarificação, maturação e engarrafamento.¹⁸

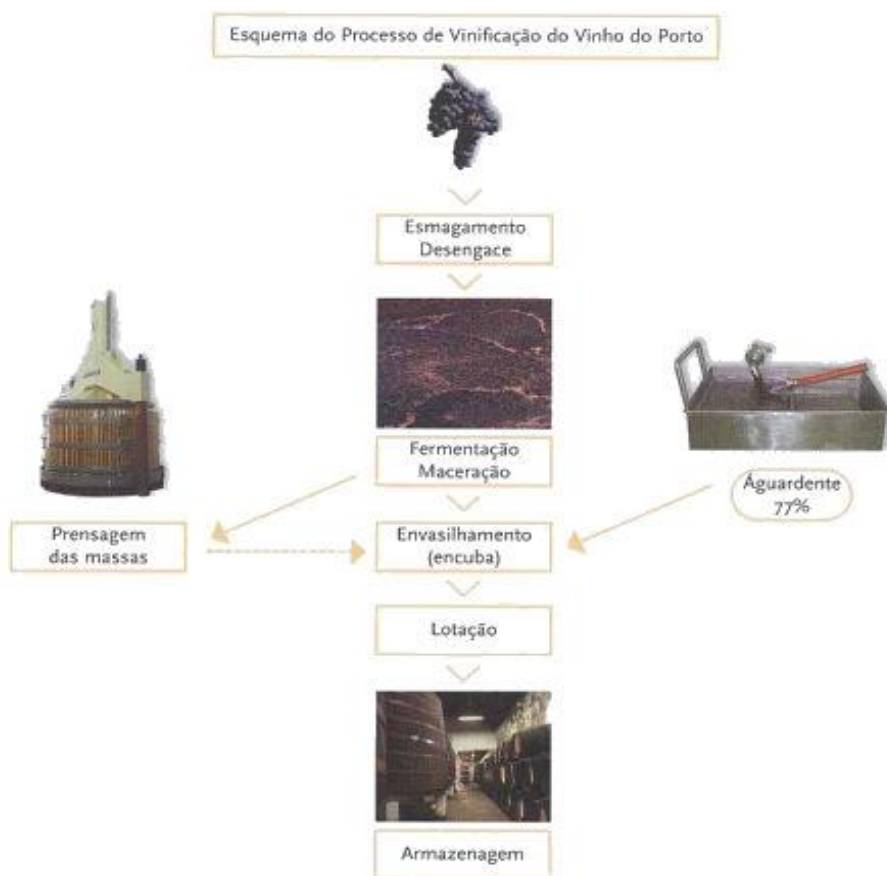


Figura 5. Processo de vinificação do vinho do Porto.¹⁸

- **Descarga no tegão:** Na receção da uva ocorre o primeiro controlo de qualidade para a produção de vinho. Este controlo vai definir a ordem de descarga e o tipo de vinho a que as uvas vão dar origem, este baseia-se no grau alcoólico provável e no peso das uvas. Contudo, também se baseia no resultado da inspeção visual á presença de corpos estranhos e do estado sanitário das uvas.
- **Desengaçador:** Após a descarga no tegão, as uvas sofrem um processo de desengace, que consiste na remoção da parte lenhosa do cacho. Depois sofrem um processo de esmagamento para quebrar a película da uva e promover o arejamento, sendo que isto facilita a multiplicação de leveduras.
- **Maceração:** Esta etapa é opcional, em que o mosto deve estar em movimento e em contato com as películas. O seu objetivo é dissolver os componentes das películas no mosto através do contacto entre ambos, visto que os componentes ligados á cor e ao aroma encontram-se nas películas. Pretendendo assim enriquecer o mosto com estes constituintes. A maceração faz-se antes da fermentação e após o aparecimento do álcool, em que os fenómenos enzimáticos responsáveis pelo enriquecimento deixam de estar ativos e a extração destes componentes passa a ser feita pela dissolução no álcool que se vai formando. A maceração pode ser feita a frio ou a quente.

Para os vinhos brancos, esta etapa tem uma duração mais curta para se conserva a cor branca pálida e os aromas frescos.

- **Fermentação alcoólica:** Após o esmagamento das uvas, o sumo começa a fermentar, iniciando-se um conjunto de reações químicas desencadeadas por leveduras que modificam o açúcar (como a frutose e glicose) existente na uva, principalmente, em etanol e dióxido de carbono. Contudo, esta exige um rigor a nível da temperatura, que ronda em norma os 28°C, sendo que é o açúcar não fermentado que confere a doçura pretendida ao vinho. Na obtenção deste vinho, esta fase é necessariamente curta com uma duração de três, quatro dias, sendo interrompida de forma precoce pela adição de aguardente.
- **Aguardentação:** Quando o mosto é separado das partes sólidas e adicionado aguardente, processo de aguardentação, que começa quando se adiciona a este terminando assim a fermentação. A aguardentação controla o nível final de doçura do vinho, conferindo o aroma intenso que lhe é característico e melhora a estabilidade deste. A escolha da aguardente é importante, visto que a sua

composição bem como o seu potencial aromático são primordiais para se obter um vinho do porto com qualidade.

- **Prensagem:** As partes sólidas que foram anteriormente separadas do mosto são prensadas, para assim apresentarem uma cor mais forte e com aromas mais intensos e riscos em taninos e polissacarídeos.
- **Trasfega:** Nesta etapa do vinho é depositado em novos recipientes, chamadas cubas de repouso, para assim se separar as partículas não desejadas do vinho e ganhar sabor. Nos primeiros dois anos os vinhos passam por numerosas trasfegas, cuja intensidade e número variam de acordo com as características que se pretendem adquirir.
- **Lotação:** De seguida, segue-se a lotação em cubas, em que se misturam pequenas quantidades de diferentes vinhos, isto é de diferentes prensagens e de várias fermentações. Isto serve para o vinho adquirir características e qualidade únicas e desejadas relativamente à cor, sabor, textura e odor.
- **Clarificação:** Nesta etapa, os vinhos são refrigerados a cerca de 8/10°C, de forma a eliminar as partículas que turvam o vinho. Visto que os vinhos permanecem nas cubas, em que por vez é necessária uma ligeira filtração apenas nos vinhos envelhecidos.
- **Maturação/Envelhecimento:** O vinho é armazenado em cuba onde fica a envelhecer, com isto se confere a identidade ao Vinho do Porto, sendo este orientado de acordo com o tipo que se pretende obter.
- **Engarrafamento:** Após este tempo predefinido de estágio, os vinhos são engarrafados e rotulados para serem comercializados.

1.3.4 Vinho Espumante

A presença de dióxido de carbono é a principal característica que diferencia os vinhos espumantes dos outros, um vinho espumante para ter qualidade, para além da cor e do aroma que possui, a capacidade de fazer espuma é também uma característica a ter em conta.¹⁹

Este vinho é executado na Adega segundo o método clássico ou de fermentação em garrafa, sendo caracterizado por a segunda fermentação do vinho ser efetuada na garrafa. Este método requer uma maior dedicação do produto, visto que é um processo mais elaborado, em que requer que as garrafas permaneçam nas instalações num período mínimo de 6 meses a partir do engarrafamento, não podendo o período de dégorgement ser inferior a 60 dias (Portaria nº337/85).

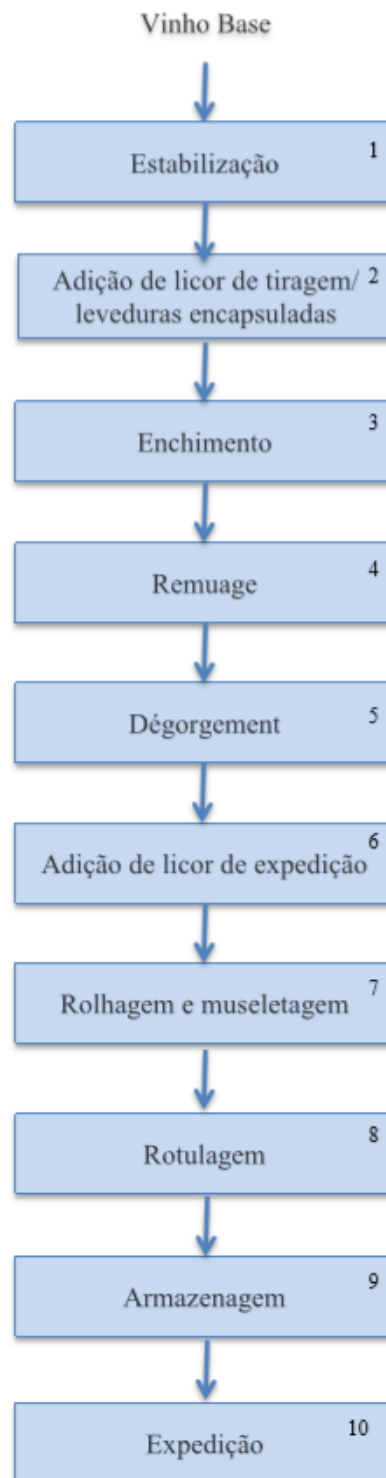


Figura 6. Fluxograma de produção do vinho espumante.²⁰

Vinho Base

O vinho base é o vinho ou o resultado da mistura de vinhos com características diferentes, destinados a obter um determinado tipo de vinho espumante. Segundo o Regulamento (CEE) nº 1493/1999 o vinho base deve conter um teor alcoólico mínimo de 8,5% vol. e no caso de vinhos espumantes de qualidade o teor mínimo é de 9,0 ou 9,5% vol.. Contudo não deve exceder os 11,5%, pois um teor alcoólico elevado vai levar a efeitos negativos no desenvolvimento das leveduras. Em relação ao valor da acidez volátil, esse deve ser baixo, inferior a 0,50 g/L, já a acidez total deve ser elevada, superior a 7,0 g/L. Na segunda fermentação de maneira a não comprometer a atividade das leveduras, a quantidade de sulfuroso deve ser baixa, sendo o SO₂ livre inferior a 10 mg/L e o SO₂ total inferior a 100 mg/L. Para além disto, o vinho base não deve ter um aspeto oxidado, deve estar isento de aromas não desejáveis e deve ter um sabor refrescante.²¹

- **Estabilização:** Quando se pretende clarificar um vinho, procede-se à colagem do mesmo, de forma a remover os sólidos em suspensão e os excessos de proteína instável. Por exemplo, quando o vinho base branco deriva de uvas tinta é normal o aparecimento de uma coloração rosada, sendo por isso necessário fazer uma descoloração, usando produtos como o carvão enológico, bentonite, complexo bentonite-caseína ou PVPP. Estes produtos podem ser utilizados no mosto em fermentação ou no vinho, sendo que normalmente faz-se uma colagem logo no mosto e depois fazem-se apenas as correções necessárias no vinho. Na Adega de Vila Real a clarificação é feita com carvão enológico, visto que este é um produto bastante eficaz como descorante, conquanto diminui a qualidade do vinho em que afeta de forma negativa as características da espuma. Os outros produtos, a bentonite e o complexo bentonite-caseína, têm fraco efeito descorante, já o PVPP apesar de ser insolúvel, diminui a matéria corante do vinho e a sua adstringência. A colagem dos vinhos base para além de serem clarificados vai favorecer a filtração, facilita a estabilização tartárica, estabiliza a matéria corante, diminui a intensidade do mesmo e melhora as características sensoriais do vinho. Após a colagem, os vinhos base são filtrados garantindo a sua clarificação extrema e também a eliminação da carga microbiana. A eliminação de microrganismos é de extrema importância, pois como a segunda fermentação é feita á custa de leveduras selecionadas, é necessário que não existam outro tipo de leveduras que possam prejudicar o processo, entrando em competição com as leveduras existentes.²¹

- **Adição de licor de tiragem/leveduras encapsuladas:** O licor de tiragem é um produto que vai provocar a segunda fermentação permitindo que se desenvolva uma pressão interna entre os 5 e os 6 bar produzindo-se consequentemente CO₂. O licor de tiragem é composto por uma mistura de xarope de sacarose com vinho base e leveduras. Tendo em conta que o vinho apresenta características como presença de álcool, pouco oxigénio e elevado teor de dióxido de carbono, as leveduras que são selecionadas devem ser eficazes nestas condições, sendo geralmente utilizadas as *Saccharomyces cerevisiae spp.*²¹

A mistura de licor de tiragem deve ser bastante bem homogeneizada e em constante agitação durante o enchimento das garrafas, de forma a que a mistura seja saturada com oxigénio, sendo benéfico e essencial para a multiplicação das leveduras. Durante o processo é realizado um controlo a nível de açúcares, utilizando o método de Soxhlet, sendo que este controlo é feito para averiguar se a quantidade de açúcar é a pretendida, e caso não o seja deve-se corrigir a mistura adicionando-se vinho base no caso de os açúcares serem em excesso, ou adicionar licor se existir défice de açúcares. Para além da determinação dos açúcares, efetua-se também um controlo a nível de álcool, acidez total, pH, SO₂ livre e total.

Um método alternativo é a mistura de vinho base com xarope de sacarose e suspensão de leveduras é a utilização de leveduras imobilizadas em esferas de alginato reticuladas pelo cálcio, designadas de billes ou leveduras encapsuladas

A introdução das leveduras encapsuladas é feita no enchimento com um equipamento previamente preparado para dosear aproximadamente 2 gramas por garrafa, sendo colocadas após a adição do licor de tiragem. Estando introduzidas as leveduras encapsuladas, estas desempenham a sua atividade fermentativa dentro da cápsula onde permanecem até serem retiradas da garrafa. Esta alternativa possui alguns benefícios em relação ao método tradicional, nomeadamente a redução de mão-de-obra, sendo a etapa de *remuage* eliminada. Desta forma, o vinho é de imediata disponibilidade, não é necessário preparar o inóculo de leveduras e as características organoléticas são bastante semelhantes á fermentação com leveduras livres.

- **Enchimento:** A garrafa utilizada para o enchimento é a tradicional, pois apresenta uma estrutura resistente capaz de suportar as elevadas pressões

que desenvolvem no seu interior. As garrafas colocam-se no tapete, passando pela enxaguadura para remover eventuais resíduos que possam conter no seu interior. Após serem lavadas seguem para enchedora. De seguida são fechadas com um obturador de plástico e com uma cápsula metálica com a inscrição do ano de engarrafamento na cápsula (Decreto-lei nº 12/85). Quando se utilizam as leveduras encapsuladas, após o enchimento das garrafas é introduzida uma porção das esferas em cada garrafa e só depois seguem para a capsuladora. As garrafas são colocadas em contentores, que seguem posteriormente para a cave da adega onde vão permanecer em posição horizontal durante a fermentação e estágio. A posição horizontal permite um maior contacto entre o vinho e as leveduras, levando a uma maior eficácia fermentativa. O tempo de fermentação é determinado pela temperatura a que se encontram as garrafas, pois quanto menor a temperatura mais tempo demora o processo fermentativo, sendo o intervalo de temperatura indicado entre os 10°C e os 20°C. Durante este período efetuou-se um controlo diário de pressão e temperatura, e tendo em conta que foram utilizados os dois métodos para fazer espumante, fez-se um controlo de ambos. ²¹

- **Remuage:** Esta etapa pode ser feita meses ou mesmo anos após a fermentação, depende de quando é necessário colocar o espumante no mercado. Esta fase consiste em fazer movimentos de agitação, rotação e inclinação das garrafas, de forma a separar a borra de fermentação do vinho, ficando retida no gargalo da garrafa. Existem dois tipos de remuage, manual e mecânica, sendo que a manual mais tradicional e por sua vez a mecânica mais recente. Na remuage manual, as garrafas são colocadas nas pupitres de madeira, em que inicialmente deixam-se em repouso os primeiros 7 dias, ou seja, em posição horizontal. De seguida inicia-se o processo, com rotações de 1/8 de volta, alternadamente, para a esquerda e para a direita. A partir dos 15 dias, passa-se a rotações de 1/4 de volta. As garrafas são diariamente remexidas e progressivamente inclinadas ficando na vertical invertidas. Esta etapa tem uma duração de um mês, pois a deposição da borra até ao gargalo é mais lenta. No fim deste tipo de remuage, retiram-se as garrafas das pupitres e colocam-se em posição vertical invertida, ou seja, em pontas, nos contentores para que a borra não fique novamente em suspensão, sendo esta operação designada de pointage. Por sua vez a remuagem mecânica é feita em contentores que giram 24 horas por dias, permitindo assim encurtar este processo para uma semana, poupando-se tempo, espaço e mão-de-obra.

Neste tipo de remuage, a operação pointage é dispensável, visto que a disposição das garrafas nos contentores permite que estas fiquem em posição de pontas ao sair da remuage ²¹.

- **Dégorgement:** Estando a borra depositada no gargalo junto á cápsula metálica, as garrafas estão prontas para a etapa seguinte, o dégorgement, que consiste em retirar a cápsula e eliminar a borra resultante da fermentação. Este processo é feito utilizando-se o método de congelação, ou seja, colocam-se as garrafas em pontas num banho congelante, ficando a borra aprisionada no interior do gelo formado, de forma a que não fiquem nenhuns sedimentos no interior da garrafa. Após ser congelado, faz-se a abertura da cápsula, ficando o vinho espumante sem borra e pronto a ser atestado e adicionado o licor de expedição.
- **Adição do licor de expedição:** Após o dégorgement a garrafa perde algum volume de vinho, precisando de ser repostado, tornando-se necessário utilizar algumas garrafas para atesto. Nesta fase adiciona-se também o licor de expedição, ou seja, o produto que confere características gustativas ao vinho espumante (Decreto-lei nº 12/85). É através do licor de expedição que se obtém o grau de doçura e se juntamente se adicionam produtos enológicos, como o sulfuroso. A dose de açúcar do licor de expedição é determinada de acordo com o tipo de espumante que se pretende produzir. A legislação portuguesa definiu o teor de açúcar para cada tipo de vinho espumante, como se pode verificar na Tabela 1 (Portaria nº 337/85).

Tabela 1. Tipos de vinho espumante.

Tipo de Espumante	Teor de açúcar (g/L)
Bruto Natural	<3
Extra Bruto	<6
Bruto	<15
Extra Seco	12-20
Seco	17-35
Meio Seco	33-50
Doce	>50

- **Rolhagem e museletagem:** O passo seguinte ao atesto é a colocação da rolha e do muselet. A rolha para vinho espumante é colocada mecanicamente de forma a que seja introduzida metade da sua altura, ficando a rolha com a formação de cabeça de “cogumelo”, sendo obrigatória neste tipo de espumante (Decreto-lei nº 12/85). Logo de imediato é colocado o muselet, pois como a garrafa possuiu uma sobrepressão no seu interior, o muselet vai impedir a abertura involuntária da rolha. De seguida as garrafas são agitadas num agitador mecânico para que o conteúdo da garrafa fique bem homogeneizado, sendo esta operação designada de poignetage. Por fim, são colocadas em contentores onde vão seguir para a rotulagem e posterior expedição.
- **Rotulagem:** Nesta etapa o vinho espumante está muito perto de ser produto final. A rotulagem consiste em colocar aquilo que identificar o produto, a sua imagem – rótulo e cápsula, bem como toda a informação necessária para o consumidor.
- **Armazenagem:** Após ser rotulada o vinho espumante é colocado em caixas e armazenado em local seco e fresco até à sua expedição.
- **Expedição:** Depois do produto embalado, este encontra-se pronto a ser vendido para o mercado e ao consumidor final.

1.4 Segurança Alimentar em Vinificação

O termo “Segurança Alimentar”, pode ser definido como a prática capaz de assegurar que os géneros alimentícios são seguros. Por outras palavras que não causam nenhum dano a curto, médio ou longo prazo, à saúde dos consumidores, incluindo os grupos mais sensíveis por motivos de contaminação interna ou externa, deterioração, putrefação ou decomposição. Isto também remete para a ausência de perigos, físico, químicos ou biológicos, nos géneros alimentícios que possam prejudicar a saúde do consumidor.²²

A segurança alimentar envolve a garantia de três pontos: evitar a contaminação ou recontaminação dos alimentos durante todo o processamento,

prevenir o desenvolvimento e propagação de contaminações iniciais e remover eficazmente os possíveis perigos. A maioria dos processamentos de géneros alimentícios, envolve um ou mais destes três pontos, referidos anteriormente, por exemplo o controlo de temperatura efetiva foi concebido para impedir o desenvolvimento e a propagação de possíveis perigos biológicos. Por outro lado, as boas práticas de higiene alimentar estão direcionadas para perigos nos géneros alimentícios.²²

O controlo eficaz da higiene dos géneros alimentícios é importante para evitar efeitos prejudiciais para a saúde dos consumidores. Tanto os produtores, como os fabricantes, ou qualquer pessoa que manipula os géneros alimentícios têm a responsabilidade de garantir que os alimentos são seguros e adequados para consumo. A mudança progressiva do comportamento na Europa face à escolha dos alimentos nas últimas décadas obrigou os produtores a repensarem as suas técnicas de produção e motivá-los a optarem por medidas que conduzem a um elevado padrão de qualidade e de higiene alimentar. A garantia da segurança alimentar nas indústrias podem ser alcançadas através da adoção de medidas do controlo das atividades e dos processos, procedimentos e recursos, de acordo com os padrões que constituem a base para o sistema de gestão de segurança alimentar (SGSA), como são por exemplo: sistemas de análise de perigos e pontos críticos de controlo (HACCP) e da ISO 22000:2005²³. O sistema de gestão da segurança alimentar (SGSA) pode ser definido como o conjunto de elementos inter-relacionadas ou interativos que estabelecem a política e os objetivos utilizados numa organização para dirigir e controlar aspetos que dizem respeito à segurança alimentar (ISO/TS 22003:2007).

As doenças de origem alimentar constituem um grave problema para a saúde pública, mesmo nos países desenvolvidos. Estudos mostram que nos EUA a ocorrência de doenças de origem alimentar causadas por agentes bacterianos, virais, parasitológicos, entre outros, representam um gasto económico de aproximadamente 152 000 milhões de dólares por anos. No ano de 2008 em Portugal registaram-se 35 surtos de doenças de origem alimentar, isto envolveu 457 pessoas e 272 hospitalizações²⁴.

Atualmente, compreende-se que há um aumento por parte das empresas em implementar procedimentos de limpeza e sanitização, tanto com os produtos alimentares como nos equipamentos e/ou mão de obra. Por causa disto, a higienização já não é vista como um processo distinto, mas está diretamente ligado a qualidade dos alimentos, bem como à saúde dos consumidores. Porque, as principais

fontes de contaminação na indústria alimentar são: o ambiente, os equipamentos, os manipuladores, as matérias-primas e os aditivos. Porém, a eficiência da limpeza e desinfecção é um procedimento crítico para a prevenção da contaminação do produto.

25

Quando se fala em higiene, existem dois conceitos que convêm ter em conta: a limpeza, que é a remoção de determinadas substâncias de uma superfície, e a desinfecção, que é a total eliminação dos microrganismos de uma dada superfície. Por isso, é necessário proceder sempre a uma boa higienização da adega, seguindo sempre o código de boas práticas de higiene da empresa, para que todas as superfícies estejam fisicamente, quimicamente e bacteriologicamente limpas, reduzindo assim ao máximo os problemas que podem ocorrer durante a vinificação. Contudo, o sucesso de uma boa higienização depende de vários fatores, tais como: o tipo de sujidade, o tipo de material em que se encontra a sujidade, os produtos utilizados na limpeza e desinfecção, o tempo de contato entre o agente de limpeza e a sujidade, a temperatura de aplicação e a qualidade da água usada na limpeza. Para se obter um produto com qualidade e que seja, portanto, aceite pelo o consumidor é necessário que ocorra durante todo o processo uma boa higiene. Para isso acontecer, deve-se respeitar todas as normas que existem na legislação, sendo que hoje em dia são cada vez mais rigorosas, que tentam proteger ao máximo a saúde do consumidor.

26

É imprescindível que exista um treinamento para todos os funcionários da empresa sobre os processos higienização. Por tanto, é necessário que possuam os conhecimentos sobre o funcionamento dos equipamentos que operam, para assim fazerem uso dos detergentes de limpeza corretamente. Ao mesmo tempo, os programas de limpeza e desinfecção devem estar adequados para cada peça de equipamento, bem como para as paredes, chão e tetos nas áreas de produção e de armazenamento.^{25,27}

Caso uma boa higiene no trabalho não funcione existem mais técnicas que se pode usar para resolver os problemas microbiológicos ou mesmo para prevenir que aconteçam, como por exemplo o tratamento térmico. Apesar de tudo isto, a higienização no vinho não é tão necessária como noutros produtos alimentar, devido que este é sempre acompanhado de uma análise sensorial, sendo por isso mais fácil detetar alguma contaminação por um bom provador.^{27,28}

O vinho é uma bebida frágil, que absorve facilmente aromas e sabores dos materiais com que contacto, sendo que conjuntamente é muito suscetível a alterações

ou doenças causadas por microrganismos. Existem diversos microrganismos, que não sendo patogênicos afetam na mesma as características organoléticas. Entretanto as boas práticas de higiene, ao longo de toda a vinificação, limitam o desenvolvimento dos microrganismos e consequentemente limitam alterações organoléticas, garantindo assim a qualidade do produto e a satisfação do consumidor. Com isto há ideias que o vinho está protegido de problemas associados à falta de higiene e consequentemente aos microrganismos, devido a possuir baixo pH, teor alcoólico e dióxido de enxofre, contudo é uma ideia errada.²⁶

1.5 Microbiana da Uva

Entende-se por diversidade biológica a diversidade da natureza viva, sendo que não existe uma definição exata deste termo, visto que esta, pode ser descrita também como a diversidade dentro de espécies, entre espécies diferentes e diversidade comparativa entre ecossistemas.²⁹ Na maioria dos casos, os compostos alimentares constituem uma fonte de carbono e/ou energia para o crescimento microbiano, permitindo assim a proliferação dos microrganismos presentes. Este processo vai provocar alterações no alimento em causa, nomeadamente na produção de maus sabores devido à degradação ou sínteses de novos compostos, sendo por isso considerado um alimento degradado ou deteriorado, impróprio para consumo. Por este motivo é necessário conhecer a flora indígena do alimento, mas também a flora contaminante específica para cada tipo de alimento ou bebida, sabendo quais são as possíveis alterações.^{29,30}

Existem muitas espécies de fungos e leveduras que são conhecidas na indústria alimentar como microrganismos indesejáveis, sendo que detetados em ingredientes utilizados no fabrico de alimentos ou bebidas, na superfície de equipamentos, nos produtos finais e nos locais de armazenamento. A presença desses microrganismos está associada à sua versatilidade nutricional e pela sua capacidade de sobrevivência em ambientes extremos de temperatura, pH, atividade de água, entre outros. Cada microrganismo possui um pH máximo e mínimo de crescimento, no entanto, no geral as leveduras toleram valores de pH mais baixos. Na maioria dos produtos alimentares, o pH situa-se na gama neutra ou ácida, em que os alimentos que apresentam um valor de pH inferior a 4,5 são preferencialmente deteriorados por leveduras e fungos. Já as leveduras, em geral, conseguem iniciar o

seu crescimento na gama de pH entre os 2 e 9, sendo que durante o crescimento podem alterar o pH inicial do substrato para um valor mais favorável ao seu crescimento, geralmente pH entre os 4-6,5.^{31,32} A utilização de pH ácidos constitui uma prática de conservação para inibir ou eliminar o desenvolvimento de microrganismos, em particular de bactérias. Para isso recorre-se à utilização de ácidos orgânicos como conservantes químicos, como por exemplo o ácido láctico, acético, cítrico ou benzoico. Os produtos fermentados, como o iogurte e o vinho, apresentam valores baixos de pH devido à formação do ácido láctico durante a fermentação, por isso são menos suscetíveis à deterioração pelas bactérias. Por sua vez, a quantidade de água necessária para o crescimento varia conforme o microrganismo. Na ausência desta verifica-se uma redução do metabolismo microbiano e consequentemente a paragem de crescimento. Contudo, apenas os organismos formadores de esporos são capazes de sobreviver na ausência de água por períodos prolongados.^{16,33}

Durante o processo de vinificação, verifica-se a existência de culturas mistas, tais como leveduras, fungos filamentosos, bacteriófagos, bactérias acéticas e lácticas, que promovem o estabelecimento de relações antagonística e sinérgicas entre os diferentes microrganismos.^{33,34} A deteção de microrganismos ao longo do processo de fabrico alimentar é uma área da microbiologia que têm uma particular atenção, visto que a presença deles pode causar risco para a saúde pública, alterar as características organolépticas dos produtos tornando-os inaceitáveis para consumo. Algumas espécies de microrganismos podem conferir características desejadas, como é o caso da fermentação.^{16,35}

A transformação do mosto de uva em vinho é um processo bioquímico complexo que envolve a interação de muitas espécies microbianas, no entanto, isto depende de diversos agentes, tais como leveduras, bactérias, fungos filamentosos, micovírus e bacteriófagos. Estes vão afetar as uvas e os microrganismos associados à vinificação.^{36,37} Através de diversos estudos realizados para ver qual a espécie de leveduras que predominam nas superfícies de uvas, conclui-se que pertencem aos géneros *Hanseniaspora*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Aureobasidium*, *Torulaspora* e *Rhodotorula*. Por sua vez, as *Saccharomyces cerevisiae* é a principal espécie usada nas fermentações alcoólicas, sendo esta a mais apta e a mais escolhida para consumir açúcares fermentáveis, assegurando assim a realização desse processo.³⁷⁻⁴⁰

Sabe-se também que a presença de determinadas bactérias, principalmente as bactérias lácticas, tem um papel importante no processo biológico da vinificação,

visto que são os responsáveis pela fermentação maloláctica, para a vinificação do vinho tinto. ⁴¹⁻⁴⁴

Vários estudos feitos sobre a quantificação e composição da microbiota responsável pelas fermentações espontâneas mostram diferenças tanto quantitativas como qualitativas das leveduras isoladas de uma mesma área de produção vitivinícola. Existem diferentes fatores que se encontram na origem desta variabilidade, afetando assim a predominância de leveduras encontradas na superfície das uvas e, conseqüentemente, a sua presença ou ausência no mosto. É de salientar que os fatores são os métodos de vindima, a composição do solo, as condições climáticas, variedades das uvas, possíveis contaminações ao longo de todo o processo e as condições do transporte das uvas. Estas diferenças ocorrem não só em diferentes regiões, mas também dentro da mesma região, em diferentes vindimas, podendo assim prejudicar a qualidade e reprodutibilidade na obtenção do vinho. ⁴⁵ Para além de diminuir a reprodutividade do vinho, estas leveduras também têm influencia no aroma, tornando assim um produto altamente variável. ³⁷ As fermentações alcoólicas lentas ou incompletas, ou seja, em que não há conversão total do açúcar em etanol, são um dos principais problemas na industria enologia, quando acontecem, o que pode estimular o aparecimento de microrganismos que prejudicam a vinho. Isto acontece, devido ao fato que elevados teor de açúcar residual no vinho (> 2g/L), aumenta a sua suscetibilidade a deterioração microbiológica. ⁴⁶

As possíveis contaminações microbiológicas têm uma elevada importância, que podem ocorrer em diversos níveis, como nas próprias uvas, no transporte delas e das diversas matérias-primas usadas, na atmosfera da adega, pelos os trabalhadores e equipamentos, através de superfícies sujas e má monitorização das condições a que o produto é sujeito, no engarrafamento e uma má armazenagem do produto. ² Inicialmente, estas possíveis contaminações mantêm-se paradas, variando durante o processo de vinificação, dependendo de vários fatores, tais como a espécie da uva, as condições de colheita das uvas, o tipo de fermentação, as etapas de produção e as condições de armazenamento ⁴⁷.

A deterioração de microrganismos não patogénicos como, por exemplo, fungos e leveduras, é considerada desagradável, devido a possíveis alterações organoléticas no produto. O vinho apresenta características que lhe confere resistência a um elevado número de microrganismo e impem o crescimento de microrganismos patogénicos, como pH baixo, teor alcoólico e dióxido de enxofre. Posto isso, sabe-se que o vinho raramente levanta problemas a nível da saúde

pública. Existem também algumas leveduras, que produzem determinados compostos, em baixa concentração, favorecem a complexidade aromática do vinho, quando essa concentração é elevada torna o vinho completamente desvalorizado. Consequentemente, limita as alterações organoléticas, garantindo assim a qualidade do produto. No entanto, como este produto preza pela qualidade, as boas práticas ao longo de todo o processo produtivo limitam o desenvolvimento de microrganismos no vinho.^{48,49}

Compreende-se por alteração microbiana de um vinho uma mudança na sua composição química normal por ação de determinados microrganismos. As leveduras desempenham um papel central no que diz respeito á deterioração de alimentos e bebidas, que na maior parte apresentam uma elevada acidez e uma reduzida atividade da água. Algumas espécies são inclusive capazes de danificar alimentos que são produzidos de acordo com as boas práticas de fabrico.⁵⁰ O vinho constitui um meio muito apropriado para o desenvolvimento de um grande número de microrganismos, devido a sua riqueza em ácidos orgânicos, aminoácidos, resíduos de açúcares, propícios para o crescimento e desenvolvimento. Existem três fatores que limitam o desenvolvimento de determinados microrganismos no vinho: o teor alcoólico, uma vez que o etanol, em determinadas concentrações é um excelente anti-séptico; pH baixo (normalmente inferior a 3,5) apesar de, por vezes, o crescimento de leveduras poder alterar o pH inicial do substrato para um valor favorável ao seu crescimento (em geral 4-6,5) e as baixas temperaturas a que esta bebida está sujeita após a época de vinificação, paralisam um vasto leque de seres microbianos. Para além destes parâmetros, existem outras características do vinho que se destacam particularmente, como o dióxido de enxofre, oxigénio e dióxido de carbono.⁵¹

A *Saccharomyces cerevisiae* tem sido utilizada na produção de vinhos, já a milénios de anos, mas existem outras leveduras presentes nas superfícies das uvas e nos processos iniciais da fermentação, em que podem influenciar as características organoléticas.^{52,53} Essas leveduras são dos géneros *Kloeckera*, *Cryptococcus*, *Torulaspora*, *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces*, *Metschnikowia*, *Issatchenkia* e *Rhodotorula*. A flora microbiana das uvas é muito diversificada e o mosto é varia ao longo da fermentação alcoólica. Observa-se uma sucessão de populações cujo crescimento e eliminação é promovido pela alteração das condições físico-químicas associadas à conversão do mosto em vinho.⁵⁴

Os taxonomistas reconhecem, atualmente, cerca de 600 espécies de leveduras, das quais aproximadamente 20% são facilmente isoladas da produção do

vinho, porém, apenas algumas parecem assumir um papel significativo como agentes de alteração do vinho.⁵⁵ As leveduras que têm a capacidade de se desenvolver no vinho designam-se normalmente por leveduras de contaminação, estas podem conduzir à formação de aromas desagradáveis no vinho, como é o caso do acetato de etilo ou de outros ésteres voláteis. O sabor também pode sofrer alterações devido à utilização de ácido láctico ou ácido cítrico pelas leveduras contaminantes, que se encontram fisiologicamente bem-adaptadas as condições presentes nas bebidas alcoólicas. Assim, estas leveduras contaminantes provocam um aumento do pH, criando deste modo condições favoráveis para o desenvolvimento de bactérias.^{40,56} O organograma da Figura 7, agrupa todos os tipos de leveduras que se podem isolar do vinho.

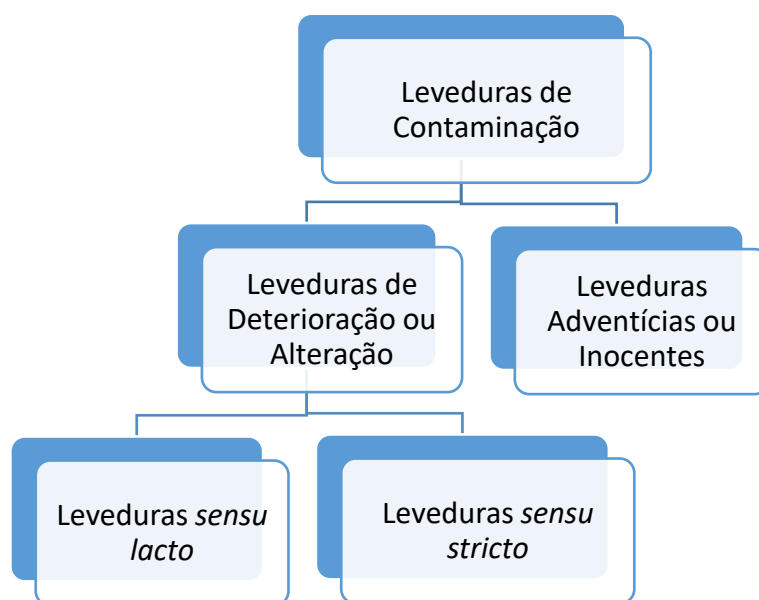


Figura 7. Tipos de leveduras de contaminação do vinho.⁵⁵

As leveduras adventícias ou inocentes surgem esporadicamente no vinho, sendo que não tem a capacidade de crescerem, em contrapartida as leveduras de deterioração crescem facilmente no vinho, provocando assim alterações na sua constituição e nas características organoléticas. Para as bebidas que sofrem fermentação alcoólica, o conceito de alteração por leveduras tem um significado complexo do que para os alimentos que não sofrem. Já nas bebidas alcoólicas, a atividade das leveduras é essencial durante o processo de fermentação, em contrapartida os alimentos não fermentados qualquer levedura com capacidade de

alterar as características organoléticas, podem ser vistas com leveduras de alteração.

57

Como se pode constatar pela Figura 7, as leveduras de deterioração podem ainda ser subdivididas em leveduras de alteração *sensu lato* e as *sensu stricto*. As primeiras englobam as espécies capazes de alterar as características organoléticas do vinho, independentemente da sua resistência aos processos tecnológicos de estabilização e aos conservados usados. Por sua vez, as leveduras *sensu stricto* são as mais perigosas devido que dispõem de mecanismos de grande resistência a condições ambientais de stress, podendo mesmo afetar os vinhos que foram processados e engarrafados de acordo com as boas práticas de fabrico.⁵⁵

Para as bebidas alcoólicas, como é o caso dos vinhos, não existe normas legislativas relativamente aos parâmetros microbiológicos, dado que os vinhos não costumam ser contaminados por microrganismos patogénicos. Apesar da presença de leveduras de deterioração ser indesejável, não é um potencial risco para a saúde do consumidor, como seria no caso de ingestão de microrganismo patogénicos. Como o consumidor é cada vez mais exigente em relação á qualidade do produto, as adegas podem optar por fixar umas normas internas no âmbito do seu sistema de qualidade. Por exemplo, na maioria das adegas na Austrália, o vinho é aceitável quando não apresenta leveduras numa garrafa de 750 mL, sendo que algumas adegas toleram até 30 leveduras em 750 mL. Contudo, na análise de rotina ao vinho, quanto se deteta a possibilidade de presença de *Saccharomyces cerevisiae* e *Hanseniaspora* ou *Zygosaccharomyces bailii*, os resultados deverão ser confirmados por um especialista antes da implementação de um plano de ação, para assim se poder identificar a possível origem das leveduras contaminantes e de as eliminar.^{37,55}

Ao longo de toda a vida de um vinho, sabe-se que existem determinadas alterações na sua composição química que lhe são favoráveis, sendo que normalmente, essas alterações acontecem durante a fase de estágio (repouso) e posteriormente na fase de envelhecimento, em que as leveduras tem um papel determinante na formação de compostos aromáticos benéficos. O problema é que existem algumas alterações negativas em que o produto fica muito danificado, levando à depreciação por parte dos consumidores e a consequentes perdas económicas para os produtores. As principais alterações pela ação de leveduras, que põem em causa a qualidade do vinho, são a refermentação, a formação de biofilmes (também conhecidos por véus) e a produção de fenóis voláteis.^{2,50,58}

A *Saccharomyces cerevisiae* é considerada a principal levedura responsável pela fermentação alcoólica e consequentemente pela transformação do mosto em vinho. Esta pode causar refermentação no vinho, principalmente quando os vinhos apresentam uma quantidade de açúcares residuais superior a 2 g/L. Esta alteração, deve a produção de dióxido de carbono e ocorrência de turvação, que resulta da permanência de algumas leveduras ativas, muitas vezes isto acontece após o engarrafamento ⁵⁹. As leveduras responsáveis, por esses acontecimentos, podem surgir apenas no final da fermentação como *Saccharomyces spp.*, ou de contaminação nomeadamente *Zygosaccharomyces bailii* ³⁴, como se pode verificar na Tabela 2.

Tabela 2. Leveduras responsáveis por problemas nos vinhos ^{16,34}.

Espécies	Problema /Composto	Ocorrência
Espécies Oxidativas		
<i>Pichia anómala</i>	Véu; cheiro (acetato de etilo)	Vinificação e Armazenamento
<i>Pichia membranifaciens</i>	Véu; cheiro (ésteres)	Vinificação e Armazenamento
<i>Dekkera bruxellensis</i>	Cheiro a suor de cavalo e a rato; aumento da acidez volátil (etifenol, piridinas e ácidos acético)	Vinificação, Engarrafamento e Armazenamento
<i>Candida sp.</i>	Véu; cheiro (ésteres)	Armazenamento
Espécies Fermentativas		
<i>Kloeckera apiculata</i>	Cheiro (ésteres)	Vinificação
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Cheiro (ésteres)	Vinificação
<i>Saccharomycodes ludwigii</i>	Escurecimento; cheiro (acetaldeído)	Vinificação, Engarrafamento e Armazenamento
<i>Saccharomyces sp. (S. cerevisiae)</i>	Escurecimento; refermentação	Armazenamento e Engarrafamento
<i>Zygosaccharomyces sp. (Z. baili, Z.bisporus, Z.rouxi, Z.microelipsoides)</i>	Sedimentos; escurecimento; refermentação	Armazenamento e Engarrafamento
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Sedimentos; escurecimento; refermentação	Armazenamento e Engarrafamento
<i>Schizosaccharomycodes pombe</i>	Cheiro; perda de acidez fixa; aumento da acidez volátil	Vinificação e Armazenamento
Várias espécies	Cheiro (H ₂ S e mercaptanos)	Vinificação e Armazenamento

Durante o armazenamento em barricas, depósitos e garrafas com excessiva camada de ar pode haver a formação de biofilmes na superfície do vinho, sendo as seguintes leveduras do género *Hansenula*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Metchikowia* e *Debaryomyces*, responsáveis por este tipo de alteração ⁵⁹. A produção de fenóis voláteis nos vinhos tem origem microbiana e está normalmente associada a condições de difícil higienização dos equipamentos, tais como as barricas de madeira, devido à

sua estrutura e à porosidade do próprio material, são muito difíceis de higienizar.^{35,60} Porém há muitos efeitos prejudiciais que podem ocorrer antes da fermentação, como por exemplo, o acetato de etilo produzido por *Pichia anomala*⁶¹ ou então na fase inicial de fermentação, como a produção de acetato por *Kloeckera apiculata* ou *Hansaniaspora uvarum*.⁶²

Apesar das leveduras assumirem um papel predominante na contaminação e nas possíveis alterações do vinho, algumas espécies de bactérias (principalmente láctico e acético) não estão isentas de uma possível propagação na indústria de vinho. As bactérias acéticas são responsáveis pela fermentação acética, transformação do etanol por oxidação em ácido acético, conferindo assim o gosto característico do vinagre. Estas bactérias pertencem à família Pseudomonodaceae, dos géneros *Acetobacter* e *Gluconobacter*. As principais espécies de bactérias acéticas são: *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter schützenbachii* e *Gluconobacter oxydans*. As principais espécies de *Acetobacter* apresentam-se nas formas de bastonetes e cocos, formando cadeias e filamentos. Para além destas, existem também as bactérias do ácido láctico (BAL) que são usualmente incluídas no grupo das gram positivos, formando bacilos ou cocos, não formam endósporos e são imóveis, ou raramente móveis. São microrganismos quimioorganotróficos com metabolismo estritamente fermentativo.⁶³ As BAL são muito importantes na fermentação de diversos produtos alimentares, sendo que se podem encontrar em ambientes muito diversos, tais como alimentos e bebidas fermentados, plantas, frutos, solo, águas residuais, fazem também parte da microflora dos tratos respiratório, intestinal e genital do homem e de animais.⁵⁶ No vinho, este grupo de microrganismos é responsável por um processo fermentativo secundário e está envolvido na libertação de compostos aromáticos. Ocasionalmente, na produção de metabolitos indesejáveis por parte destes microrganismos pode provocar alterações das propriedades organolépticas e das características toxicológicas do produto final. As principais espécies de BAL já referenciadas por diversos investigadores como tendo sido isoladas nesta fase do processo de vinificação são: *Lactobacillus plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. hilgardii*, *Lb. brevis*, *Lb. confusus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus damnosus* e *Oenococcus oeni* (esta última é a espécie que realiza a fermentação malo-láctica).^{64,65} As leveduras, por competirem pelos nutrientes e por produzirem substâncias inibidoras, como etanol, SO₂, ácidos gordos de cadeia média, retardam o crescimento das BAL durante a fermentação alcoólica. Apesar disso, as leveduras podem ter um papel estimulante no crescimento das BAL e na atividade malo-láctica.^{16,45,66}

1.6 Composição da uva e os seus principais compostos

Segundo o instituto da Vinha e do Vinho, “o vinho é o produto obtido pela vinificação/fermentação alcoólica, total ou parcial de uvas frescas, provenientes de vários tipos de castas (*Vitis Vinífera*), cujos bagos são esmagados, prensados ou transformados por outros processos tecnológicos permitidos por lei. O vinho é composto por: água (mosto); álcool etílico (açúcar); ácidos orgânicos fixos (ácido tartárico); ácidos orgânicos voláteis (ácido acético); ácidos minerais; sais ácidos; glicerina (que confere a macieza e o aveludado); taninos (conferem a adstringência); matéria corante (cor); matérias minerais e matérias azotadas; vitaminas; bebida adequada ao consumo, apresenta aromas frutados, perfumados e diversos outros bouquets.”

A composição do vinho é complexa, visto, que essa depende tanto dos componentes provenientes das uvas como das interações entre estes que ocorrem durante toda a produção do vinho. Estas interações podem ter implicações na qualidade sensorial, sendo difícil de se prever o quanto esta pode ser afetada, visto que também pode afetar a estabilidade química do vinho. Em contrapartida, existem ainda muitos outros componentes por identificar em que não se sabe qual o seu contributo no produto final, sendo que a composição química está mais associada à presença de compostos como o ácido acético e etanol, em que os teores destes variarem de vinho para vinho.⁶⁷

As transformações que ocorrem nas uvas durante a maturação não ocorrem simultaneamente. Desta forma, podemos distinguir vários estados diferentes de maturação que não costumam coincidir no tempo. Estes estados são a maturidade fisiológica (germinação), industrial (quando atinge maior peso e concentração em açúcar sem decréscimo dos ácidos) e tecnológica (quando atinge as características ótimas para o seu destino final tendo em conta o tipo de vinho que se deseja produzir).

⁶⁸

Tradicionalmente só a maturação industrial era tida em conta, contudo hoje em dia os enólogos procuram também outras características nas uvas, tais como os compostos fenólicos e os terpénicos. Esta mudança de mentalidade, deve-se a convicção que apenas as uvas com alto teor em fenóis, tem a capacidade de produzir vinhos com qualidade⁶⁸. O processo de maturação vai determinar a qualidade da uva,

sendo por isso o momento da vindima um fator importante na produção de vinhos de qualidade.⁶⁹

O constituinte mais abundante nas uvas e no vinho é a água, de acordo com a tabela abaixo (Tabela 3). Esta é essencial nas reações químicas que afetam o crescimento das bagas, para além disso também é importante nas fermentações, no envelhecimento do vinho e a nível sensorial. É de realçar, que a água também é importante para a solubilidade de outros constituintes devido que só os compostos, totais ou parcialmente, solúveis em água e que são significativos na composição do vinho.⁷⁰ Por sua vez, o segundo componente maioritário é o etanol, em que este é produzido durante a fermentação alcoólica. Este álcool é o mais importante nos vinhos, devido às suas funções, ou seja, não se limitam apenas nas características organoléticas, no envelhecimento do vinho, mas também no controlo microbiano e consequentemente na conservação do vinho. Para além disso, o etanol é capaz de dissolver compostos voláteis durante a fermentação e maturação do vinho evitando assim a perda destes compostos durante a vinificação, pode agir com um solvente para a extração de pigmentos e taninos durante a vinificação das uvas tintas.⁷¹

Tabela 3. Teores médios constituintes essenciais do vinho. ⁷²

	Constituintes	Proporções	Observações
Produtos Voláteis	Água	700-900 g	23% Vinhos especiais Segundo o modo vinificação Expresso em H ₂ SO ₄
	Álcool Etilico	8,5-17% Vol.	
	Álcoois Superiores	0,15-0,50 g	
	Acetaldeído	0,005-0,5 g	
	Ésteres	0,5-1,5 g	
	Ácidos Voláteis (ácido acético)	0,3-0,5 g	
Ácidos Orgânicos	Tartarato	5-10 g	Depende da origem da uva Segundo a vinificação com ou sem FML Até 1g em vinhos especiais
	Málico	0-1 g	
	Láctico	0,2-1,2 g	
	Sucínico	0,5-1,5 g	
	Cítrico	0-0,5 g	
Produtos Fixos	Açúcares	0,8-180 g	Segundo o modo vinificação
	Glicerol	5-12 g	
	Taninos e matérias corantes	0,4-4g	
	Gomas e matérias pécicas	1-3 g	
Gás dissolvido	CO ₂	0,2-0,7 g	Mais nos vinhos novos Legislação Mais nos vinhos frágeis
	SO ₂ Total	80-200 mg	
	SO ₂ Livre	10-50 mg	
Metais	Potássio	0,7-1,5 g	
	Cálcio	0,06-0,9 g	
	Cobre	0,0001-0,003	
	Ferro	0,002-0,005	
	Chumbo	<0,003 g	
ácidos Minerais	Sulfatos	0,10-0,40 g	
	Cloretos	0,02-0,25 g	
	Fosfatos	0,08-0,50 g	

A composição do açúcar varia conforme a maturação das uvas e do estado sanitário delas, igualmente da espécie de videira usada para a produção. A glucose e a frutose são os principais açúcares existentes nas uvas, mas existem outros que se encontram presentes em menores proporções, tal com a xilose e a ribose. Os

açúcares são importantes no vinho, devido ao seu contributo no sabor, quer no sabor original quer nos sabores obtidos a partir da metabolização de açúcares, álcoois superiores, ésteres e aldeídos, e principalmente á fermentação alcoólica devido ao seu papel na produção de etanol. Os açúcares também estão associados ao escurecimento, através das reações de Maillard, em alguns vinhos brancos e vinhos fortificado, isto pode acontecer durante ou envelhecimento ou até mesmo ser provocado pela fervura do mosto. ⁷⁰

1.6.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias metabólicas secundárias, produzidas pelas plantas e acumulados nos tecidos destas. Estes compostos têm uma grande diversidade estrutural, sendo caracterizados por apresentar um anel de benzeno, em que pelo o menos um dos hidrogénios é substituído por um grupo hidroxilo. Um elevado conhecimento das varias estruturas polifenólicas presentes nas uvas e dos seus mecanismos de evolução durante a vinificação é fundamental para avaliar o seu papel em enologia e no desenvolvimento dos processos tecnológicos adaptados á matéria-prima e ao tipo de produto desejado. ^{70,73} Estes compostos têm uma enorme importância na área do vinho, uma vez que estão relacionados com a qualidade dos mesmo, sendo que alguns destes compostos são os responsáveis pelo sabor, adstringência e cor do vinho. ⁷⁴

Tanto as uvas com o vinho contêm uma variedade de compostos fenólicos, em que todos eles derivam do fenol, estrutura básica, em que o teor total de compostos fenólicos é maior nas uvas do que no vinho. O teor e o tipo de compostos fenólicos totais, varia devido a inúmeros fatores, tais como o clima, o solo, a variedade da uva como também dos enológicos usados. A principal diferença entre as uvas brancas e as uvas tintas deve-se a estes compostos, ou seja, devido a ausência ou presença de antocianinas. ⁷⁴ Os polifenóis, taninos condensados, antocianinas e as suas combinações são os responsáveis pela cor dos vinhos tintos e ainda pelas suas características organolépticas. A cor nos vinhos tintos deve-se principalmente á presenças destes compostos, o que faz com que seja um indicador importante para a qualidade final do vinho e é a característica que mais impressiona de imediato o consumidor. ⁷⁵ No caso dos vinhos tintos, durante o seu envelhecimento ocorre uma

diminuição de antocianinas monoméricas, sendo que isto depende das características iniciais do vinho e das condições de armazenamento dele.⁷⁶

Este composto encontra-se nas uvas, mas de proporções diferentes que nas grainhas existe uma maior quantidade de flavanóis e ácido gálico, e na polpa estão presentes os ácidos hidroxicinâmico tartárico, no vaso fibrovasculares encontram-se principalmente os flavanóis, taninos condensados (proantocianidinas) e antocianinas. Observa-se que o conteúdo de antocianinas e taninos aumenta com a maturação das uvas e por sua vez os ácidos fenólicos diminuem. Entretanto estes compostos são extraídos das uvas para o vinho durante a maceração, acompanhando a fermentação alcoólica contribuindo assim para a composição polifenólica dos vinhos.⁷⁷

A natureza, estrutura e quantidade de compostos fenólicos está diretamente relacionada com a evolução e avaliação dos vinhos. Sendo que, segundo as suas características específicas, os compostos fenólicos existentes nas uvas e no vinho podem ser agrupados em dois grupos: os compostos flavonoides e os compostos não flavonoides. Do primeiro grupo fazem parte os flavanóis, flavonóis e as antocianinas, e no segundo grupo fazem parte os ácidos hidroxibenzóicos, hidroxicinâmicos e estilbenos⁷⁴.

1.6.1.1 Compostos Flavonoides

Os compostos flavonoides são compostos fenólicos em que a estrutura base é constituída por dois anéis benzénicos ligados por um heterociclo oxigenado e possui um esqueleto comum do tipo C₆-C₃-C₆ (Figura 8). Esta classe pode ser dividida em várias famílias que se distinguem pelo seu grau de oxidação do heterociclo.⁷⁴

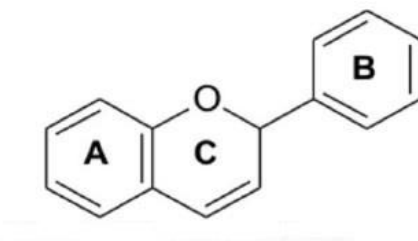


Figura 8. Estrutura química dos Flavonoides⁷⁴.

Os flavonoides mais importantes são as antocianinas, os flavan-3-ol e as proantocianidinas, este grupo contribui, essencialmente, para a cor e estrutura do vinho e também para a adstringência. Estes compostos encontram-se nas grainhas, na polpa e na película das uvas podem ser encontrados no seu estado livre ou então polimerizadas com outros flavonoides, compostos não flavonoides, açúcares ou ainda combinações dos anteriores.⁷⁸ Nas uvas, os flavonoides são sintetizados no retículo endoplasmático, e posteriormente armazenados nos vacúolos das células que as produzem. Presume-se que a sua função nas uvas é a proteção contra micróbios, insetos e herbívoros.⁶⁸

1.6.1.1.1 Antocianinas

As antocianinas são os pigmentos responsáveis pela a cor das películas das uvas e consequentemente pela cor dos vinhos tintos. A concentração destas nas uvas tintas, variam com o grau de maturação, do tipo de castas e das práticas de viticultura usadas.⁷⁴

As antocianinas, geralmente, estão presentes em todas as partes das plantas desta das folhas até a flores e frutos.⁷³ Em relação as uvas, encontram-se nos vacúolos das células da hipoderme da película, podem-se encontrar na polpa dos bagos das castas tintureiras. A cor dos bagos depende da natureza das antocianinas da película e das suas diversas concentrações e a coloração da polpa nas castas tintureiras é diferente devido que a natureza das antocianinas é diferente das da película.^{67,76}

Estes compostos, são flavonoides com estrutura $C_6-C_3-C_6$, em que a cadeia em C_3 está sob a forma de ião pirílio, no qual o oxigénio tem uma estrutura de ião oxónio. A sua estrutura apresenta dois anéis benzénicos unidos por um heterociclo oxigenado, insaturado e catiónico, em que o catião flavílio deriva do núcleo 2-fenil-benzopirílico. As antocianinas diferem pelo número de grupos hidroxilo e metilo presentes no anel lateral, pela sua natureza, pelo número de açúcares ligados à molécula, pela ausência ou presença de um radical carboxilo alifático ou aromático esterificadas com os açúcares e pelas as posições destas ligações.^{73,79}

As antocianinas, estruturalmente, existem na natureza sob a forma heterósidos de uma unidade aglicona, também denominada de antocianidinas, que

derivam do ião *flavilium*. As antocianidinas e seus derivados glicosídicos são designados antocianinas, geralmente, são mono ou diglucósidos e derivados acilados de antocianidinas. Estas não existem na natureza sob esta forma, visto que para terem mais estabilidade estão sempre esterificadas com uma ou mais moléculas de açúcar.

80

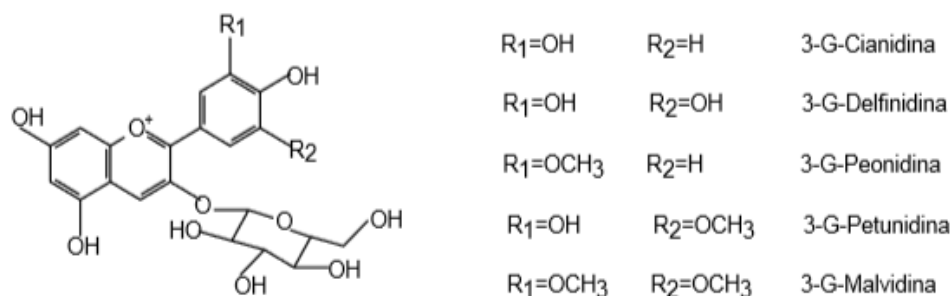


Figura 9. Estrutura das antocianinas mais comuns encontradas nas *Vitis Vinífera* ⁷⁴.

A cianidina 3-D-glucósido, a delfinidina, a peonidina, a petunidina e a malvidina são antocianinas mais comuns na variedade *Vitis vinífera*. As suas quantidades variam consoante a casta, e a quantidade maioritária é sempre de 3-D-glucósido de malvidina. Nesta variedade, é característico encontrar uma molécula de glucose ligada na posição 3, e nas outras são diglucósidas nas posições 3 e 5. Os ácidos cafeico, o p-cumárico e o acético, são os principais ácidos que podem esterificar a glucose na posição 6. Na figura 9, estão representadas as estruturas destas antocianinas. ⁸¹ A imensa variabilidade criada por estas estruturas e a coexistência destas diferentes moléculas na mesma planta permite que haja distinção do género e da espécie. ⁷⁴

As antocianinas quando se encontram na sua forma livre são compostos bastante instáveis a sua estabilidade aumenta com o número de grupos metoxilo, no anel B e diminui com o aumento dos grupos hidroxilo. A antocianina mais estável é a malvidina seguindo-se a peonidina, a petunidina, a cianidina e a delfinidina, por ordem decrescente. ⁷⁰ A degradação das antocianinas pode ocorrer por ação da luz ou por efeito de oxidação, em que a última começa com a formação das chalconas que posteriormente darão lugar à rutura do heterociclo C. Esta degradação de antocianinas

é bastante favorável a temperaturas elevadas, o que provoca uma perda de cor irreversível no vinho, tratando-se de uma reação limitada de forma a beneficiar a estabilização da matéria corante do vinho. Por esta razão deve-se conservar os vinhos a temperaturas moderadas, protegidos da luz e de oxigenações fortes.⁷⁴

Após o esmagamento das uvas e antes da fermentação alcoólica, ocorrem inúmeras reações de condensação que envolvem as antocianinas, as procianidinas e as catequinas o que resulta na formação de novos polímeros, a co-pigmentação, este fenómeno é pertinente para as alterações na cor do vinho.⁷⁷ Este é um fenómeno que se observa nos tecidos vegetais que contenham antocianinas e compõe-se no aumento da intensidade da cor vermelha. Ocorrem as ligações covalentes estáveis, formando-se antocianinas poliméricas, presentes nos vinhos envelhecidos. Porém, esta evolução de antocianinas monoméricas a poliméricas leva a perda de intensidade da cor, o que poderá causar alteração na tonalidade da cor vermelha-púrpura a vermelho, depois a amarelo-vermelho.⁸²

A cor das antocianinas varia com as condições físico-químicas do meio, com as estruturas químicas e com o número e a natureza dos substituintes. A cor pode variar entre o vermelho, roxo e azul consoante o aumento dos grupos hidroxilos e quando se substitui este grupo por um grupo metoxilo acontece o oposto, enaltece para o tom vermelho.⁷⁴ A cor das antocianinas pode-se relacionar com o pH para pH ácido > 6 encontramos tons azuis, para pH entre 3-6 encontram-se tons roxos e pH entre 1-2 os tons vermelhos. A realização da quantificação totais de antocianinas é feita por espectrofotometria, através da absorvância simples, entre os 400–700nm a sua cor está diretamente relacionada com o pH.⁸³

Existem dois tipos de transformações das antocianinas que condicionam a cor dos vinhos: a transformação reversível e a transformação irreversível. A transformação reversível, acontece quando as condições físico-químicas do meio levam a descoloração passageira dos pigmentos e a transformação irreversível quando há a destruição definitiva da cor. A cor destes pigmentos varia com as condições do meio, como o pH e a quantidade de SO₂ dependendo do meio ambiente e da estrutura química da molécula.^{74,83}

Na presença de SO₂ as antocianinas podem ser fortemente descoloradas, dado a presença do dióxido de enxofre estabelece o seguinte equilíbrio (em solução aquosa):



O ião bissulfito (HSO_3^-) ao reagir com o catião flavílio, provoca uma descoloração reversível nas antocianinas. Estas apenas retomam a sua cor inicial, progressivamente, quando ocorre a diminuição da concentração de SO_2 livre. Esta reação não ocorre facilmente em meio muito ácido, pela concentração do ião bissulfito é menor, pois estes passam à sua forma de ácido livre. Isto explica a descoloração dos vinhos tintos após a sulfitação, que faz com que a cor reapareça progressivamente, com a diminuição do teor de sulfuroso livre. Nestes vinhos, são os principais responsáveis pela a cor, não sendo tão sensíveis ao efeito descolorante do dióxido de enxofre. ^{74,84}

Uma das caraterísticas da molécula de antocianinas é a variação da sua estrutura em função do pH, levando a uma mudança de cor. Estas mudanças são resultado de equilíbrios químicos entre as diferentes formas que uma antocianina pode apresentar condicionando a sua cor. A um certo pH as antocianinas 3-glucosídicas são mais coradas que as antocianinas 5-glucósido ou as antocianinas 3,5-diglucósido. ¹⁴

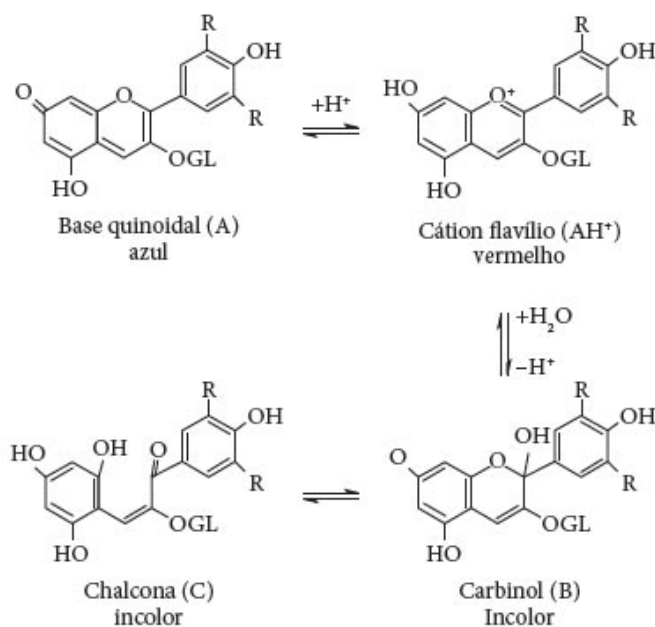


Figura 10. Equilíbrio das antocianinas em função do pH. ⁸⁵

A pH muito ácido, o catião flavílio (A^+) é a forma maioritária apresentando uma coloração vermelha. Quando o pH do meio aumenta, a forma A^+ transforma-se em base quinoidal (AO) de cor violácea e na forma carbinol (AOH) que é incolor. Ambas as reações ocorrem em simultâneo de acordo com as suas constantes de equilíbrio. Por outro lado, a forma AOH favorecida a temperaturas elevadas transforma-se em chalcona cis e trans com coloração amarela. Por último, a chalcona trans pode ser oxidada dando lugar a fenóis. Todas estas reações são reversíveis com exceção da reação de oxidação que leva à perda de cor irreversível. A elevada temperatura de conservação do vinho favorece a formação das chalconas e a sua posterior oxidação, comprometendo a estabilidade da cor do vinho.⁸⁴

As antocianinas têm vastos benefícios para a saúde, tais como o efeito antioxidante e anticancerígeno, diminuição da hipertensão arterial, regulação da síndrome metabólico e também devido ao alívio da inflamação crónica. Atualmente, as antocianinas são muitas vezes usadas como corantes alimentares e pondera-se a possibilidade de uso como suplemento alimentar ou medicamento, resultado dos efeitos benéficos para a saúde.^{75,76}

1.6.1.1.2 Flavanóis

Os flavanóis encontram-se principalmente, nas grainhas e nos engaços, em maiores quantidades, e nas películas em menores quantidades. A quantidade destes compostos nas uvas varia com o tipo de casta, o estado de maturação das uvas, os fatores ambientais (nomeadamente as condições climáticas da colheita) com as práticas de viticultura usadas, a área de produção e com a quantidade de frutos recolhidos. Estes compostos possuem uma capacidade antioxidante, em que funcionam como agentes anti-inflamatórios e precipitantes de proteínas, para além de potenciais de iões.⁸⁶

Os flavanóis estão presentes na forma de monómeros, oligómeros ou polímeros (conhecidos com taninos condensados ou proantocianidinas). Os mais importantes são as proantocianidinas e flavan-3-ol, sendo que este último caracteriza-se por ter um anel heterocíclico saturado.⁷⁰ Tanto na uva como no vinho, os principais flavan-3-ol são a (-)-epicatequina e a (+)-catequina. Nestes compostos são epímeros no carbono 3, e também pequenas quantidades de galato de epicatequina.⁸⁷, estruturas químicas estão representadas na figura seguinte (Figura 11).

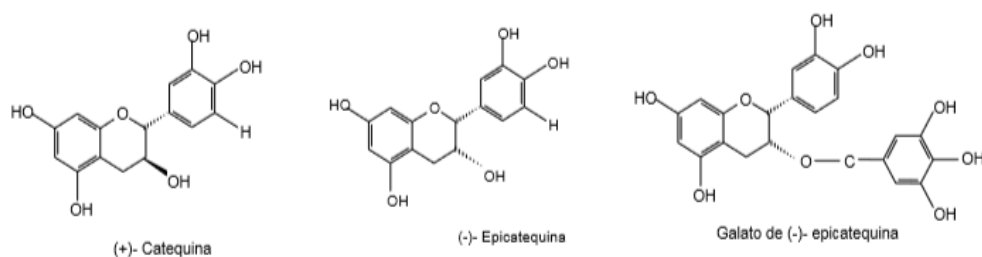


Figura 11. Estrutura químicas dos principais flavan-3-óis presentes no vinho e na uva. ⁷⁴

As antocianidinas são libertadas pelas proantocianidinas, quando aquecidas em meios muito ácidos, à rutura das ligações entre as unidades monoméricas. Com a libertação de delphinifina e cianidina as moléculas passam a ter o nome de prodelfinidinas e procianidinas. A primeira é constituída por galocatequinas e epigalocatequinas a segunda, polímeros de catequina e epicatequina. ⁷⁰

As proantocianidinas podem ser dímeros, trímeros, oligómeros ou polímeros e a unidade fundamental são as moléculas de flavan-3-ol, consoante o número de vezes que esta se repete. Tanto na uva como no vinho, as principais proantocianidinas são as procianidinas, ou seja oligómeros e polímeros de (-)-epicatequina e (+)-catequina unidas por ligações C₄-C₈ e C₄-C₆. ⁸⁷ As suas estruturas químicas estão representadas na figura 12.

Quando existe um contacto limitado com as películas, caso dos vinhos brancos, as catequinas são os principais flavonoides, responsáveis pelo acastanhamento dos vinhos brancos ou tintos e por algum amargor. ⁸⁸

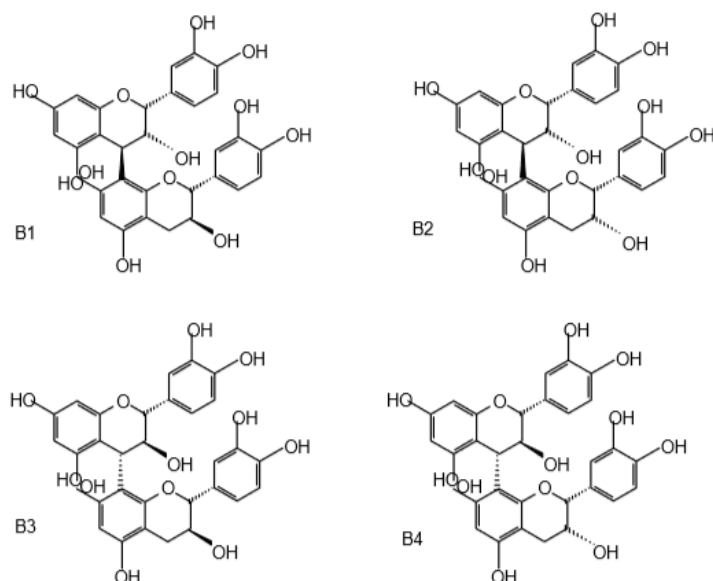


Figura 12. Principais estruturas químicas das procianidinas ⁷⁴.

Os taninos condensados, mais conhecidos por prantocianidinas, são compostos fenólicos que têm a capacidade de se combinar com proteínas ou outros polímeros, como por exemplo os polissacáridos. ⁸⁶ Isto pode provocar a sensação de adstringência, pela perda do efeito de lubrificação da saliva por precipitação das proteínas. A também adição de taninos pode limitar que ocorra a degradação das antocianinas, pois estes podem servir de substrato oxidável em vez das antocianinas. Deve-se realçar que quando os taninos combinam com as antocianinas, estes impedem que as antocianinas se tornem muito sensível a luz e a temperatura. ^{73,76}

As procianidinas localizam-se principalmente nas partes sólidas das uvas variando o seu teor de casta para casta. A maceração provoca nos vinhos uma extração das partes sólidas das uvas para o mosto, por este motivo os vinhos tintos apresentam teores mais elevados de procianidina que os brancos. A conservação e envelhecimento dos vinhos influenciam a sua cor e as características organoléticas. Com o tempo, os taninos condensados polimerizam, aumentando o seu peso molecular. Consequentemente, aumentam a impressão da estrutura ou corpo e a capacidade de o vinho envelhecer, mantendo a cor ao longo do tempo. ⁸⁹

1.6.1.1.3 Flavonóis

Os flavonóis são compostos caracterizados pela presença de uma insaturação no anel heterocíclico e um grupo hidroxilo na posição 3, porém estes encontram-se na natureza na forma heterosídica. Nas uvas, estes compostos, encontram-se na forma de glicósidos em que são facilmente hidrolisáveis, já nos vinhos tintos encontram-se as agliconas. As formas estruturais das agliconas mais frequentes e com mais interesse em enologia são o quempferol, a miricetina e a quercetina, por consequente são os flavonóis que se encontram em maior quantidade no vinho (Figura 13).^{70,74}

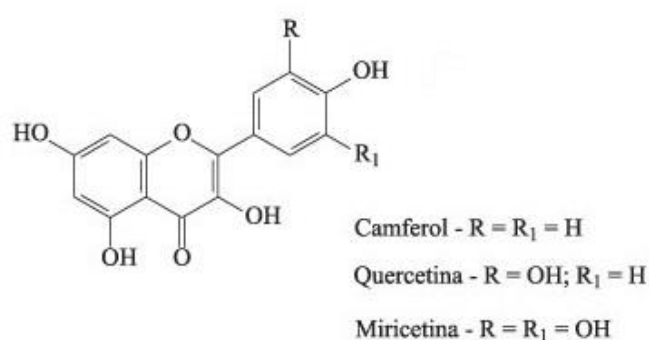


Figura 13. Estrutura química dos flavonóis no estado livre.⁷⁴

Estes compostos, são de cor amarela em que se localizam nos vacúolos das células da película das uvas de castas brancas e tintas, bem como nos engaços em que no caso das uvas brancas dá-se pela ausência da miricetina. Estes compostos, também podem existir na polpa no caso de serem castas tintureiras.^{70,74}

Os flavonóis, embora a sua presença nas uvas seja minoritária, são compostos importantes no vinho, principalmente no vinho tinto, devido á ter um papel importante na evolução da cor. Isto deve-se á sua capacidade de atuar como co-pigmentos e de poder modificar a cor das antocianinas, assumindo assim uma grande importância na cor dos vinhos envelhecidos. Apesar de se encontrarem nas películas das castas bancas e de serem pigmentos amarelos, não são considerados muito importantes na cor dos vinhos brancos. Estes compostos protegem as antocianinas da condensação e da polimerização oxidativas, devido a sua capacidade antioxidante, permitindo assim que os vinhos envelhecidos mantenham a sua coloração vermelha com reflexos violetas.⁸²

1.6.1.2 Compostos não Flavonóides

As uvas, o mosto e o vinho, contêm sempre ácidos fenólicos, benzoico e cinâmicos, e outros derivados fenólicos como os estilbenos. Estes ácidos podem estar na forma livre ou na forma esterificada com o ácido tartárico ou outros compostos do vinho. Nos vinhos, uma parte significativa, destes ácidos encontram-se no seu estado livre, já nas uvas, estes encontram-se todos esterificados. Nas uvas, os principais ácidos fenólicos são os ácidos hidroxicinâmicos, encontram-se nos vacúolos das células das películas e da polpa, sob a forma de ésteres tartáricos. Os ácidos fenólicos são incolores quando se encontram numa solução, com mistura hidroalcoólica.⁷⁴ No sumo das uvas, obtidos por pressão direta das uvas, os compostos fenólicos existentes são maioritariamente os não flavonoides.⁷³

Os compostos não flavonóides são importantes, devido ao seu papel na oxidação, que gera o acastanhamento do mosto e do vinho. Diretamente, isto não está a influenciar o sabor do vinho, mas está relacionado com o aparecimento de fenóis voláteis que pode levar a alterações a nível do aroma. Estes compostos, individualmente, encontram-se em concentrações baixas, no seu coletivo têm um papel importante no aroma e gosto dos vinhos.⁹⁰

Estes compostos fenólicos são os mais importantes nos vinhos brancos por se encontrarem sobretudo na polpa das uvas, embora eles se encontrem individualmente em concentrações baixas, coletivamente têm um papel importante no aroma e gosto dos vinhos.⁹¹

1.6.1.2.1 Ácidos benzoicos

O ácido benzoico é um composto aromático com a fórmula química $C_7H_6O_2$ e que pertence ao grupo dos ácidos carboxílicos. Este composto é insolúvel em água e solúvel em solventes orgânicos menos polares, como ésteres, álcoois e benzeno.⁹²

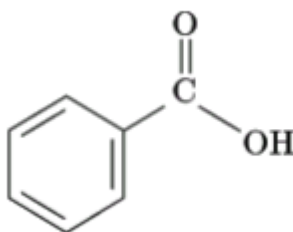


Figura 14. Estrutura química do Ácido benzoico. ⁹²

Devido a sua propriedade antimicrobiana, este ácido é bastante utilizado pela indústria alimentar para a conservação de alimentos e também pela indústria farmacêutica para a produção de cosméticos e medicamentos, essencialmente os antifúngicos. Através do ácido benzoico derivam-se importantes sais, tais como o benzoato de sódio ($C_7H_5NaO_2$) muito utilizado na conservação de alimentos e na composição de antitérmicos, a benzamida (C_7H_7ON) usado no fabrico de medicamentos, o benzoato de metila ($C_8H_8O_2$) aplicado na produção de perfumes e pesticidas e também o cloreto de benzoila (C_7H_5OCl) um líquido incolor que é utilizado em várias sínteses orgânicas. ^{16,92}

Os ácidos mais importantes que derivam do ácido benzóico são o ácido vanílico, o ácido sirínico e o ácido salicílico. Estes aparecem ligados às paredes celulares, principalmente, o ácido gálico que se encontra sob a forma de éster dos flavanóis. Outros ácidos benzóicos existentes em menor quantidade são o protocatéquico, o gentísico e o p-hidroxibenzóico. Estes ácidos encontram-se nas uvas na forma de ésteres e no decurso da elaboração e conservação do vinho, vão sofrendo uma hidrólise lenta e assim, no vinho encontram-se estes compostos quer livres quer combinados. ⁷⁴

De um ponto de vista da caracterização varietal, pode-se utilizar a relação entre os ácidos vanílico e o ácido sirínico, consoante seja maior ou menor que um, para distinguir entre diferentes variedades. ⁹³

1.6.1.2.2 Ácidos hidroxicinamil tartáricos

Os ácidos fenólicos da série cinâmica encontram-se na uva combinados com o ácido tartárico na forma de ésteres. Os ácidos mais importantes que derivam do ácido cinâmico são o cafeico, o ferúlico e o p-cumárico.⁷⁴ As suas estruturas químicas estão representadas na figura 15.

A importância dos ácidos hidroxicinamil tartárico, ao contrario dos outros fenóis, não é apenas pelo o seu contributo para a adstringência, mas sim devido ao fenómeno de acastanhamento oxidativo que os mostos ou o vinho brando podem sofrer. Estes compostos são ricos em grupos hidroxilo, sendo por isso as primeiras substancias fenólicas a serem oxidadas nas respetivas quinonas, pelas enzimas fenoloxidásicas. No entanto, estas quinonas podem reagir com outros componentes presentes no mosto, havendo assim o aparecimento de compostos com coloração que variam de amarelo a castanho.⁹⁴

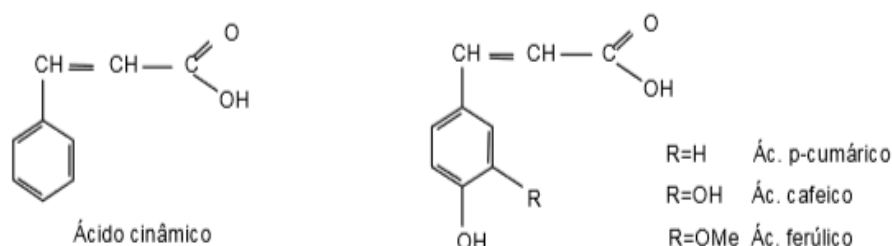


Figura 15. Estrutura química do ácido cinâmico e dos seus derivados.⁷⁴

Na polpa das uvas, onde são os únicos compostos fenólicos existentes, o ácido cafeiltartárico é o mais abundante, sendo o feruriltartárico o que se encontra em menor quantidade. Sendo a diferença entre variedades apenas de ordem quantitativa, este dado dificilmente se pode usar na caracterização varietal.⁹³ O teor em ácidos hidroxicinâmicos nas uvas varia muito de acordo com a variedade.⁹⁵

Alguns ácidos fenólicos como o cafeico, o p-cumárico e o ferúlico podem atuar como precursores de compostos aromáticos, através de reações de conversão, isomerização, hidrólise, oxidação e redução, sendo que se podem transformar em outros compostos, nomeadamente em fenóis voláteis, odoríferos. Os compostos

odoríferos possuem odor pouco agradável a “farmácia”, estando geralmente, associados a aroma de fumado, de madeira, de couro e apimentados, contudo em baixos teores podem ser bastante agradáveis. ⁹⁶

Já nas células da película, tanto pode prevalecer o ácido cafeiltartárico como o ácido p-cumariltartárico, pelo que as variedades se podem dividir e, dois grupos segundo a relação existente entre estes dois ácidos. ⁹³

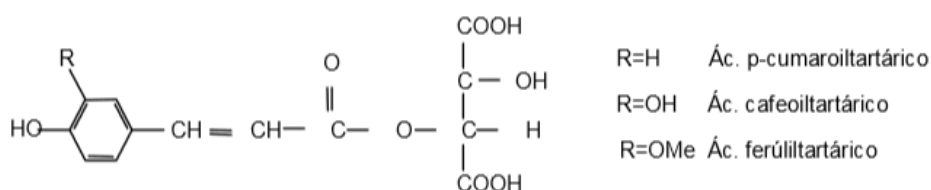


Figura 16. Fórmula geral dos ácidos hidroxicinamiltartáricos. ⁹⁵

Ao contrário dos outros fenóis, a importância dos ácidos hidroxicinamiltartáricos não se prende com o seu contributo para a adstringência, mas sim como os fenómenos de acastanhamento oxidativo que os mostos ou vinhos brancos podem sofrer. Estes compostos, ricos em grupos hidroxilo são as primeiras substâncias fenólicas a serem oxidadas, pelas enzimas fenoloxidásicas, nas respetivas quinonas. Estas quinonas envolvem-se em reações que conduzem ao aparecimento de compostos, com colorações que variam do amarelo ao castanho, nos mostos. ^{93,95}

Os teores dos ácidos tartáricos e dos triésteres (ácido fenólico - ácido tartárico – glucose) variam de casta para casta, contudo é na película bastante mais rica que a polpa, sendo que decrescem fortemente durante a maturação. O éster mais abundante é o cafeiltartárico, seguido do p-cumaroiltartárico e depois do feruloiltartárico, já os triésteres são tão abundantes como estes últimos. ^{96,97}

A levedura é capaz de descarboxilar os ácidos fenólicos formando fenóis voláteis, sendo que a utilização de preparações enzimáticas contendo atividades esterases também favorece o aumento destes compostos. O pH do vinho, os fenóis

voláteis são ainda suscetíveis de sofrer transformações durante a conservação e o envelhecimento.^{98,99}

1.6.2 Compostos Voláteis

O aroma de um vinho é de uma enorme complexidade devido ao elevado número de composto intervenientes como resultado terminal de uma longa sequência biotecnológica, por um lado, e da grande variabilidade de concentrações, e por outro lado, pode oscilar deste pouco manogramas por litro até muito miligramas por litro. Acresce ainda o fato de cada composto apresentar o seu próprio limiar de percepção olfativa que é muitas vezes condicionado pelo conjunto dos outros compostos presentes na solução hidroalcoólica que é o vinho.¹⁰⁰

Os compostos voláteis constituem um grande grupo heterogéneo de substâncias químicas, em que tem uma enorme relevância sensorial contribuindo assim para a complexidade do carácter varietal do vinho.^{101,102} Designa-se por aroma varietal de um vinho, todos os compostos voláteis característicos da variedade da uva, podendo estes não estar diretamente identificado na uva, ou seja, precursores de aroma, podendo apenas se revelar no decorrer da fermentação e do envelhecimento do vinho. Pode-se então afirmar que os compostos voláteis ou precursores de aroma presentes nas uvas, têm um papel fundamental na qualidade e no carácter regional dos vinhos, sendo por isso os responsáveis pelo aroma varietal do vinho.⁷⁴

Geralmente, os precursores de aroma são substâncias não voláteis como os glicosídeos, ácidos fenólicos, ácidos gordos ou também conjugados de cisteínas, sendo capazes de originar compostos com aroma pela ação de certas enzimas. Estes compostos por serem instáveis, podem se transformar noutros compostos, como por exemplo os terpinóis e norisoprenóides em C₁₃, contudo este podem ser odoríferos ou não.⁷⁴

No potencial aromático da uva, além do aroma varietal livre e dos precursores de aromas, pode-se englobar o aroma pré-fermentativo uma vez que tem origem precursores existentes na uva, podendo alguns dos seus componentes participar, ainda que de forma ténue no aroma varietal, figura 17.¹⁰³

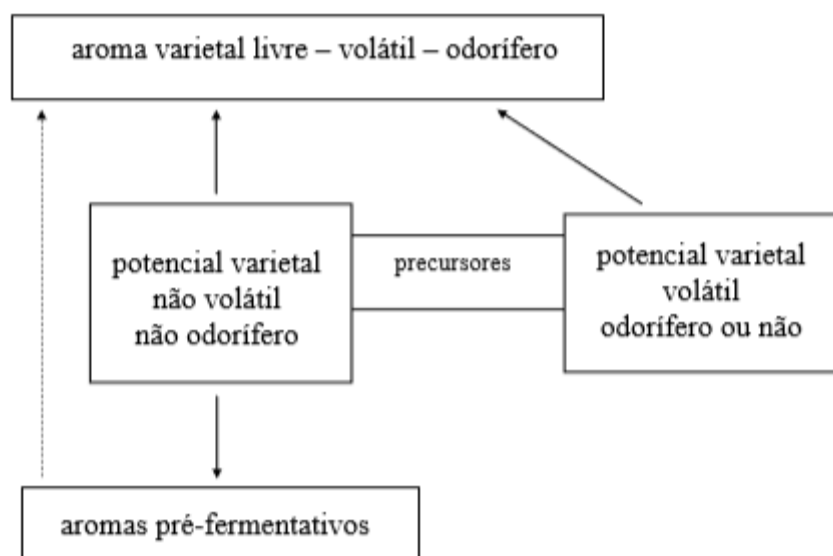


Figura 17. Potencial aromático da uva. ¹⁰³

Existem inúmeros compostos voláteis responsáveis pelo aroma final do vinho, em que determinar qual deles têm maior relevância para o vinho é complicado, visto a dificuldade de estudar todos estes compostos.¹⁰⁴ Porém esta diversidade deve-se, principalmente, ao metabolismo das uvas, que irá depender do tipo de casta, do solo, do clima da região e das técnicas de vitivinícolas usadas. No entanto pode depender ainda de reações química e enzimáticas ou de fenómenos bioquímicos, tais como a oxidação e hidrólise, que ocorre antes da fermentação, durante a maceração e extração do mosto, bem como do metabolismo dos microrganismos responsáveis pela fermentação alcoólica e maloláctica.^{74,105}

Os compostos voláteis da uva são produzidos durante o desenvolvimento e maturação do bago podendo ser influenciados pelos níveis de nutrientes no solo, disponibilidade de água, condições climáticas, exposição ao sol e crescimento vegetativo dos frutos.¹⁰⁵ Existem mais compostos voláteis no vinho do que no sumo de uva, em que muitos destes compostos são produzidos pelas leveduras e bactérias durante a fermentação, sendo por isso denominados de aromas fermentativos. Os fatores aliados á fermentação que podem ter impacto no aroma do vinho são o tipo de cuba de fermentação, tipo e quantidade de levedura, temperatura de fermentação, adição de nutrientes e técnicas de remontagem.¹⁰⁶

O aroma dos vinhos jovens é completamente influenciado pelos produtos secundários da fermentação alcoólica, tais como, ésteres, álcoois, compostos carbonílicos, compostos de enxofre, ácidos voláteis e fenóis voláteis. Para os vinhos tinto, a fermentação maloláctica tem também um papel importante no aroma final do vinho.¹⁶

1.6.2.1 Compostos Terpénicos

Os compostos terpénicos apresentam uma cadeia carbonada constituída por unidades de isopreno, sendo que a sua estrutura esta apresentada na figura abaixo, (fig. 18). Estes compostos constituem uma vasta família de compostos bastante distribuídos no reino vegetal.⁷⁴

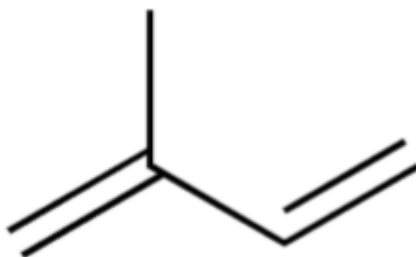


Figura 18. Estrutura do isopreno.⁷⁴

Existem alguns compostos voláteis que provêm exclusivamente da uva tais como os monoterpenos, compostos em C₁₀), e os sesquiterpenos, compostos em C₁₅. Estes dois compostos são maioritariamente responsáveis pelo aroma floral e frutado do vinho, sendo que podem ser encontrados na uva na sua forma livre ou conjugada.^{104,107}

As formas conjugadas destes compostos, encontram-se ligadas a moléculas de açúcar, como por exemplo arabinose, glucose e ramnose, em que são denominadas de glicoconjugados e são hidrolisadas por reações de catálise ácida e por glicosidases. Estas enzimas podem vir das uvas com também das bactérias e leveduras.^{106,108}

Por outro lado, os monoterpenóides aparecem na forma de hidrocarbonetos (como o mirceno e o limoneno), álcoois (como o linalol e o geraniol), aldeídos (como a

linalal e a geranial), ácidos (como o ácido e o gerânico) e por fim ésteres (como o acetato de linalilo). Alguns dos principais monoterpênóides descritos como componentes da composição volátil das uvas brancas encontram-se representados na figura 19. Os monoterpênóides, como o linalol, o geraniol e o citronelol estão associados ao aroma a crítico, rosa e limão nos vinhos. ⁷⁴

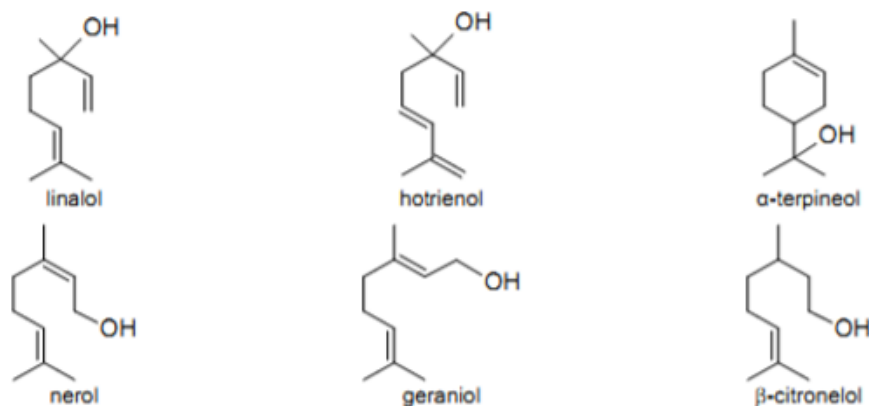


Figura 19. Principais monoterpênóis encontrados nas uvas brancas. ⁷⁴

Os sesquiterpenos foram identificados como componentes voláteis em uvas de variedade *Vitis vinífera L*, também em uvas das castas *Riesling*, *Baga* e *Fernão Pires*. ^{109,110} Os principais compostos voláteis identificados são o germacreno D, β-bourboneno, γ-cadineno, α-calacoreno, farnesol, γ-eudesmol e nerolidol. ¹¹¹ Contudo, estes compostos estão associados a descritores de aroma com madeira, especiarias, floral, cravinho e óleo. ¹¹²

1.6.2.2 Norisoprenóides

A degradação oxidativa dos carotenoides, terpenos com 40 átomos de carbono, produzem entre outros derivados com 9, 10, 11 e 13 átomos de carbono (Fig.20). Entre estes componentes varietais está os norisoprenóides, composto com C₁₃, origina adores agradáveis como chá, violetas, flores, maçã e eucalipto, devido ao baixo nível de percepção sensorial (μg/L). ¹⁰⁷

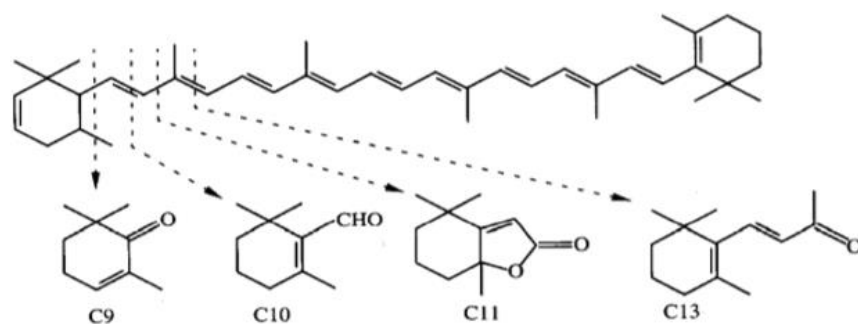


Figura 20. Degradação dos carotenoides conduzindo a formação de norisoprenóides em C₉, C₁₀, C₁₁ e C₁₃.⁷⁴

Os norisoprenóides, em C₁₃, estão divididos em dois grupos, os megastigmanos e os não megastigmanos, em que cada um deles inclui um número elevado de compostos voláteis. O esqueleto megastigmano é caracterizado por um anel ciclo-hexano substituído nos carbonos 1,5 e 6, e uma cadeia alifática insaturada com 4 átomos de carbono ligada a C₆. Esta estrutura pode ser oxigenada no carbono 7, como a β -damascenona, ou também no carbono 9, como na β -ionona.⁷⁴

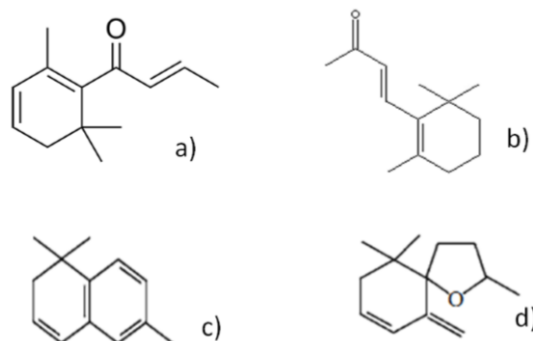


Figura 21. Compostos mais abundantes nos vinhos: a) β -damascenona; b) β -ionona; c) TDN; d) visticpirano.⁷⁴

Estes compostos estão presentes na uva sob a forma de precursores glicosilados, porém podem aparecer na forma livre. Por sua vez, os norisoprenóides, mais abundantes nos vinhos são β -damascenona, a β -ionona, o 1, 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN) e o visticpirano. Já que os precursores são suscetíveis de sofrer hidrólise ácida e enzimática, podendo ser também produtos diretos da degradação de carotenoides, como é o caso do β -caroteno, luteína, neoxantina e violaxantina.¹¹³ A β -damascenona encontra-se associada a aromas florais, frutos

tropicais e maçã, já a β -ionona a violetas, enquanto que a 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN) tem descritores de aroma a queroseno e vistispirano a cânfora.

¹¹⁴ Na figura 21, encontram-se representadas as estruturas destes 4 compostos.

1.6.2.3 Ésteres

Os ésteres representam o grupo de compostos voláteis mais importantes produzido durante a fermentação, contribuindo assim para o aroma frutado dos vinhos. Principalmente são produzidos dois tipos de compostos, o acetato e os ésteres etílicos de ácidos gordos.^{106,108}

A formação dos ésteres pode ocorrer em reações químicas ou enzimáticas durante a fermentação, sendo que estes ésteres são sintetizados pelas leveduras na presença do álcool acetiltransferase (AATases) tendo como substratos os álcoois superiores e a acetil Co-A.^{106,108} A síntese dos ésteres etílicos dá-se a partir do etanol, por ativação de cadeias curtas de ácidos gordos ou lípidos, no caso de ésteres etílicos de ácidos gordos, ou ácidos orgânicos, no caso ésteres etílicos de ácidos orgânicos.^{115,116}

Os ésteres etílicos dos ácidos gordos, butanoato de etilo, hexanoato de etilo e octanoato de etilo, são muito aromáticos sendo associados a descritores de aroma a doce e frutado. Os acetatos de álcoois superiores como o acetato de isoamilo e acetato de isobutilo, têm descritores de aroma a banana, já por sua vez o acetato de hexilo tem aroma a frutado.^{115,116}

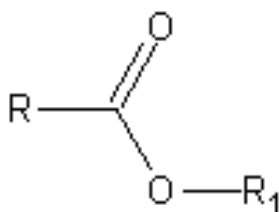


Figura 22. Fórmula geral dos ésteres.⁷⁴

1.6.2.4 Álcoois

Os álcoois são produzidos pelas leveduras e bactérias durante a fermentação alcoólica. O etanol é o produto da conversão dos açúcares por parte das leveduras, contudo este composto não é considerado um composto de aroma. A presença do etanol é muito importante pois irá facilitar a dissolução de diversos compostos, não só os compostos fenólicos como também de compostos do aroma, contribuindo desta forma para o aroma global dos vinhos. ⁷⁴

Os álcoois superiores, compostos com mais de dois átomos de carbono apenas com uma função álcool, são produzidos pelas leveduras durante a fermentação a partir de açúcares ou aminoácidos. O 2-metil-propano e butanol são os álcoois que se encontram em maior quantidade nos vinhos e têm descritores que contribuem para as características frutadas dos vinhos. Outro álcool maioritário é o hexanol, estando associado ao descritor de aromas herbáceos. Vinhos que tenham elevadas concentrações de álcoois superiores resultam em vinhos com aromas e sabores fortes. ¹⁰⁶

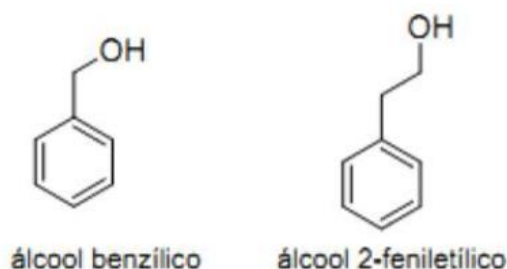


Figura 23. Álcoois aromáticos presentes nos vinhos. ⁷⁴

O álcool benzílico e álcool feniletílico, figura 23, são os álcoois aromáticos presentes nos vinhos, sendo que são formados durante a fermentação alcoólica e são responsáveis pelo o aroma floral e adocicado. ¹⁰⁶

1.6.2.5 Ácidos Carboxílicos

Os ácidos identificados nos vinhos estão presentes nas uvas ou podem ser formados durante o processo de fermentação. O ácido acético é o ácido mais volátil

produzido durante o processo de fermentação pelas leveduras, em que este caracteriza-se pelo aroma a vinagre e está relacionado com a acidez volátil dos vinhos.⁷⁴

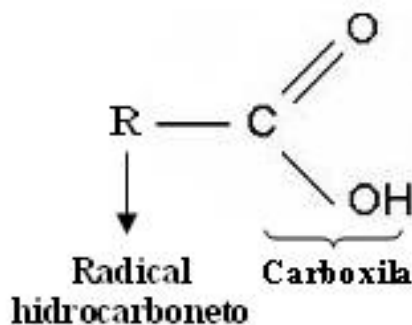


Figura 24. Formula geral dos ácidos carboxílicos.⁷⁴

Nos vinhos, alguns ácidos podem conferir aromas agradáveis ou desagradáveis, estas diferenças devem-se ao tamanho da cadeia carbonada. Ácidos com pequenas cadeias carbonadas (C_2 a C_5) conferem aromas desagradáveis aos vinhos, como o ácido acético confere aroma a vinagre e o ácido butanoico está associado a aroma a ranço e a manteiga. Os ácidos com mais de 5 carbonos na cadeia carbonada conferem aromas agradáveis, como é o caso do ácido hexanóico que está associado a aroma frutado.⁷⁴

1.6.2.6 Aldeídos e Cetonas

O composto carbonílico mais abundante nos vinhos é o acetaldeído, resultante da descarboxilação do piruvato pelo piruvato descarboxilase com libertação de dióxido de carbono. Este composto confere ao vinho um aroma a maçã verde. O diacetil é outro composto carbonílico presente no vinho, produzido pelas bactérias durante a fermentação maloláctica, sendo que contribui para o aroma a manteiga, isto depende do tipo de vinho pode ser desagradável.¹¹⁷

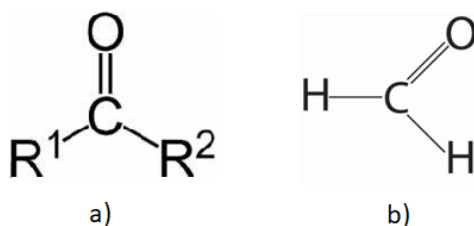


Figura 25. Formula geral a) cetona b) aldeído. ⁷⁴

O benzaldeído é o aldeído aromático presente em maior quantidade nas uvas e nos vinhos, este composto confere aroma a amêndoa e cereja aos vinhos. A vanilina é o aldeído aromático proveniente da madeira, sendo responsável pelo aroma a baunilha.¹¹⁸ Existem outros aldeídos extraídos da madeira, tal como o 2-furfural e 4-metilfurfural, estes compostos conferem aroma a manteiga e amadeirado ao vinho.¹¹⁹

As cetonas mais importantes são a 3-hidroxi-2-butanona e a 2,3-butanodiona, sendo estes os compostos responsáveis pelo aroma a manteiga nos vinhos. Contudo, existem outras cetonas identificadas no vinho, tal como a propanona, butanona e pentanona.⁷⁴

1.6.2.7 Compostos de enxofre

Os compostos de enxofre que contribuem para o aroma dos vinhos são produzidos tanto pelas leveduras como pelas bactérias, sendo geralmente considerados off-flavours.¹²⁰ O sulfureto de hidrogénio, H₂S, é produzido pelas leveduras durante a fermentação quando as fontes de azoto se esgotam, proporcionando um aroma desagradável a ovos podres.¹⁰⁶

Os tióis voláteis são formados a partir dos seus precursores inodoros nas uvas, estes compostos são moléculas com baixo limite de perceção sensorial que conferem aos vinhos aromas frutados. Foram inicialmente identificados em vinhos Sauvignon Blanc, estando muito associados a esta casta. Estes compostos são importantes para o aroma do vinho provenientes de castas com Pinot Gris, Riesling e pelo aroma frutado de vinhos rosé, produzidos a partir de castas como Merlot, Cabernet Syrah e Grenache.^{121,122}

Os principais tióis voláteis identificados nas diversas castas são a 4-mercapto-4-metil-2-pentanona (4-MMP), o acetato de 3-mercapto-hexilo (3-MHA), o 4-mercapto-4-metil-2-pentanol, o 3-mercapto-1-hexanol (3-MH) e o 3-mercapto-3-metil-1-butanol, encontrando-se ligados a aminoácidos, nomeadamente à cisteína e à glutatona. Estes compostos estão associados a descritores de aroma a buxo, giesta, toranja e maracujá.¹²³

1.6.2.8 Compostos Fenólicos voláteis

Os ácidos fenólicos como o cafeico, o p-cumárico e o ferúlico podem atuar como precursores de compostos aromáticos, por reações de conversão, isomerização, oxidação, redução e hidrólise, originando fenóis voláteis. Estes compostos são os responsáveis pelas notas a fumado, madeira, couro e apimentadas (4-vinilguaicol) e em baixos teores podem ser benéficos para o aroma do vinho.¹¹³

O guaiacol e o 4-metilguaicol são responsáveis pela presença de aroma a fumado nos vinhos, podendo este aroma ser devido á tosta das barricas, tendo estes aromas já sido descritores em vinhos Sauvignon Blanco, Antão Vaz e Arinto.¹¹³

1.6.2.9 Lactonas

Tal como outros compostos, as lactonas podem estar presentes nas uvas ou serem formadas durante o processo de vinificação ou durante a evolução e envelhecimento dos vinhos. As uvas, as lactonas são menos representativas, mas já foram identificadas em uvas de casta Riesling, Fernão Pires e Bical, sendo que tem contributo decisivo para o aroma varietal. Estes compostos, são responsáveis por aromas agradáveis e frutados, tais com o γ -octalactona e γ -nonalactona que têm descritor de aroma a coco, frutado e amêndoa.¹²⁴

1.6.2.10 Furanos

Os furanos são formados pela degradação dos açúcares, podendo ser formados durante o envelhecimento dos vinhos, como por exemplo o 2-etoxifurfural, etil-2-furanoato e 2-furfural. A presença destes compostos resulta da exposição do vinho a altas temperaturas, durante o envelhecimento.¹²⁵

1.6.3 Taninos

Os taninos podem ser classificados em hidrolisáveis e não hidrolisáveis ou taninos condensados, já referidos anteriormente, segundo a sua estrutura química. Os primeiros não aparecem naturalmente nas uvas e não contém moléculas de flavonoides, sendo que estes compostos resultam da ligação de açúcar, geralmente a glucose, a um composto fenólico, principalmente o ácido gálgico ou o ácido elágico.⁷⁴

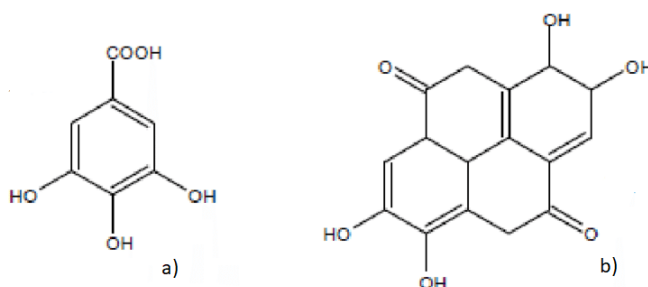


Figura 26. Unidades estruturais dos taninos hidrolisáveis a) Ácido gálgico b) Ácido elágico.⁷⁴

Os taninos são moléculas capazes de formar combinações estáveis com as proteínas e com os outros polímeros vegetais, tais como os polissacarídeos. Com esta, propriedade advém o poder de adstringência e a capacidade de inibição enzimática, o que constitui o princípio das colagens com aditivos proteicos. O sabor, sensação de secura, dita adstringência, que deixam na boca explica-se por causarem a precipitação das proteínas das células superficiais de epitélio bucal e simultaneamente, das glicoproteínas da saliva.¹²⁶

Os taninos, quimicamente, são moléculas fenólicas relativamente volumosas que resultam da polimerização de moléculas elementares com função fenol. As

ligações mais estáveis ocorrem entre as proteínas e os taninos, inativando assim as enzimas. As massas moleculares dos taninos ativos têm um peso molecular entre 500 e 3000 Dalton, nos mostos e vinhos jovens os taninos têm um peso à volta dos 500-700 Dalton, dímeros e trímeros, enquanto que os vinhos mais velhos têm uma condensação que atinge pesos moleculares médios de 2000-3000 Dalton.^{126,127}

Os taninos distribuem-se pela película, grainha e engaço, encontrando-se em maior concentração na película e grainha. Na película, estes compostos, podem estar ligados as paredes celulares, as membranas vacuolares e livres no vacúolo. Os taninos estão localizados nas paredes pectocelulósicas das células do tegumento e em vacúolos nos primeiros períodos de desenvolvimento, sendo a sua difusão para o meio dificultado pela cutícula hidrofóbica que envolve a grainha. Os taninos que se encontram na película têm tendência para se combinar com elementos parietais, por sua vez, nas grainhas encontram-se no estado livre e esterificados com o ácido gálico.¹²⁸

1.6.4 Ácidos Orgânicos

Os ácidos orgânicos são um importante grupo de compostos presentes nas uvas e nos vinhos, sendo que tem influência nas propriedades organoléticas como no sabor, odor e aroma, como também na estabilidade e controlo microbiológico. Provêm diretamente da uva ou de processos em que o vinho é submetido como a fermentação alcoólica e malolática.¹²⁹ Os principais componentes responsáveis pela acidez do mosto da uva são os ácidos tartárico e ácidos málico, representado na Figura 27. A concentração destes compostos no mosto está relacionada com o aspeto fisiológico e a maturação da uva, como também do clima, solo e das praticas de produção.^{129,130}

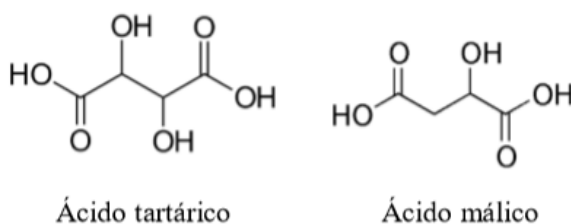


Figura 27. Estruturas químicas dos principais ácidos presentes nas uvas. ¹³⁰

No início do desenvolvimento das uvas, o teor dos ácidos é elevado, sendo que estes são sintetizados pelas folhas e acumulados nas bagas ainda verdes. A concentração do ácido tartárico aumenta rapidamente devido à intensa multiplicação celular, já que ele é um produto secundário do metabolismo dos açúcares importados para a baga responsáveis pela sua produção.¹³¹ Durante o desenvolvimento das bagas, dá-se um aumento progressivo destes dois ácidos até ao momento em que as bagas começam a iniciar a sua mudança de cor, sendo que depois estes diminuem com o amadurecimento. Esta diminuição está relacionada como o aumento da respiração, transformação dos ácidos em outros compostos, efeito de diluição devido ao aumento de volume do fruto e também da habilidade reduzida do fruto sintetizar ácidos com a maturidade.¹³²

No vinho, os ácidos tartárico e málico, provenientes das uvas dão origem aos ácidos sucínico, láctico e acético através da fermentação. A análise destes ácidos é útil para monitorizar a acidez durante as várias etapas do processo de vinificação (fermentação alcoólica e malolática e envelhecimento do vinho) apresentando grande importância na deteção de possíveis alterações no vinho.¹³³

1.7 Vinhos Monocasta e Multicasta

Atualmente, existe uma enorme variedade de castas de vinhos, principalmente na região do Douro, que serve para a conceção dos melhores vinhos do Mundo. Desta forma existem de vinhos monocasta, são constituídos por uma única casta e multicasta, por sua vez, são constituídos por um conjunto de castas diferentes. Como seria de espera, cada um deste tipo de vinho, possuem as características diferentes, principalmente a nível da sua composição química.¹⁴

Uma visão mais tradicional, insiste nas virtudes dos lotes multicastas, pelo benefício evidente em misturar casta, isto porque se pode aproveitar o melhor do que cada casta tem para oferecer, combinando assim as virtudes e minorar as imperfeições, de forma a poder um lote com melhores qualidades. Visto, que se numa combinação de castas diferentes, com as particularidades escolhidas e pretendidas, pode-se conseguir combinar a estrutura ácida de uma casta com a estrutura tanina de outra e com a matéria corante de outro, em que o conjunto será assim o melhor do que a individualidade de cada casta. Sempre se plantou vinhas misturadas, ou seja, com castas diferentes em que nalgumas ocasiões o mesmo talhão tinha castas

diferentes. Isto servia para se poder ver o defeito de cada casta, para saber qual a associação proveitosa para o conjunto.⁵⁸

Apesar disso, a identificação de castas é importante para os produtores de vinho, como também para as autoridades reguladoras e consumidores.

1.8 Análise Sensorial

A análise sensorial pode ser definida com a ciência do “exame das características organoléticas de um produto pelos órgãos dos sentidos” (ISO 2005).

Análise sensorial permite-nos caracterizar e medir atributos sensoriais dos produtos, ou ainda determinar se as diferenças nos produtos são significativas, ou seja, se as diferenças são detetadas e aceites pelos consumidores. Esta análise torna-se muitas vezes importante para certas situações, tais como o desenvolvimento de novos produtos, controlo ou ainda na compreensão, determinação e avaliação das características sensoriais dos produtos ¹³⁴. A avaliação sensorial fornece indicações para a preparação e gustação de amostras que são ordenadas aleatoriamente. Esta avaliação deve ser individual, para não haver influências sobre o provador. Em relação às amostras, estas devem ser numeradas aleatoriamente de modo a que os resultados sejam fiáveis ¹³⁵. Contudo, a análise sensorial pode ter várias definições, tal como o “exame das características organoléticas de um produto pelos órgãos dos sentidos”, segundo a Norma Portuguesa 4263 (1994), sendo ainda de salientar que os principais órgãos sensoriais são a boca, a língua e o nariz. Assim sendo, na indústria alimentar as qualidades sensoriais tais como a textura, o sabor, a cor e o aroma são fatores determinantes na escolha dos produtos por parte dos consumidores.¹³⁶

A análise sensorial é um ramo da tecnologia alimentar que tenta fornecer uma medida da qualidade sensorial. A qualidade sensorial resulta da interação do homem com o alimento, e não das propriedades intrínsecas dos alimentos, podendo desse modo ser definida como uma sensação humana produzida por estímulos provocados pelo alimento. A perceção do provador depende da classe e intensidade do estímulo, mas também do seu condicionamento sociológico e psicofisiológico.¹³⁴

Para um perfil sensorial discreto correta é determinante que estejam reunidas algumas condições, nomeadamente: sala de degustação devidamente

preparada para o efeito; amostras codificadas do alimento a ser avaliado; painéis de provadores devidamente treinados e um chefe de painel para coordenarem a prova.¹³⁷

2. Materiais e Métodos

2.1 Amostras

As amostras utilizadas neste trabalho foram recolhidas e analisadas na Adega Cooperativa de Vila Real, a fim de estudar as características físico-químicas de dois tipos de vinho branco: monovarietal e multivarietal. Em particular analisar se existe diferenças significativas entre estes dois tipos de vinhos diferentes.

- Amostra 1: Vinho Monovarietal (Rabigato)
- Amostra 2: Vinho Multivarietal

Para a elaboração de vinhos de qualidade, as análises físico-químicas representam um suporte importante para o acompanhamento da vinificação. Cada interferência por parte do enólogo durante o processo de vinificação, como por exemplo a desacidificação ou acidificação, adição de conservante ou açúcares, momento da descuba, entre muito outros, baseia-se nos resultados dos testes laboratoriais. As técnicas de análises usadas na vinícola são a determinação da densidade relativa (que serve para acompanhar a fermentação), o grau alcoólico, acidez total e volátil, pH e sulfuroso total e livre.

2.2 Métodos para a determinação dos parâmetros físicos-químicos

2.2.1 Densidade

A densidade é definida como o coeficiente de peso específico do vinho pelo peso específico da água, sendo a densidade absoluta o quociente entre a massa de certo volume de vinho ou de mosto e o seu volume. A densidade relativa é a relação expresso em quatro casas decimais, da massa volumétrica da água a mesma temperatura. Indiretamente a densidade relativa, permite determinar aproximadamente o extrato seco e o teor de açúcar nos vinhos.¹³⁸

Através da análise de densidade consegue-se acompanhar a fermentação alcoólica, em que como a glicose é mais pesada que o etanol, o enólogo consegue seguir o processo de uma fermentação medido a densidade do mosto. A densidade do mosto diminui progressivamente até entre 0,992 e 0,998, ou seja, a glicose está sendo consumida e consequentemente álcool produzido. Juntamente com a análise da

densidade é realizada uma medida da temperatura do mosto em fermentação para um maior controle deste processo.¹³⁸

A quantidade de calor libertado durante a fermentação alcoólica é de aproximadamente 25,4 Kcal, o que provoca um aumento de temperatura no mosto de 10 a 15°C durante a fermentação. Portanto, se a uva chega com temperaturas elevadas (por volta dos 30°C), o mosto em fermentação atingirá rapidamente 40 a 45°C. Isto leva a necessidade de arrefecer o mosto e controlar a temperatura de fermentação, pois temperaturas elevadas são prejudiciais as leveduras podendo levar a interrupção da fermentação.¹³⁹

A temperatura é um fator importante na atividade de todas as leveduras. Existem temperaturas ótimas mínimas e máximas para cada uma das diferentes funções da célula: respiração, fermentação, crescimento das leveduras consequentemente afeta o curso da fermentação, assim altas temperaturas podem levar a interrupção de fermentação. Na prática, a temperatura ótima para a vinificação resulta da relação entre uma temperatura suficiente para obter uma fermentação rápida e não excessivamente elevada para não inibir a multiplicação de leveduras. Para isso, em geral, recomenda-se temperatura de 17°C, como a melhor para o funcionamento das leveduras, pois ocorrerá uma maior esterificação e liberação de produtos aromático.¹³⁸

Procedimento:

A densidade relativa, 20/20°C foi determinada por um densímetro.

2.2.2 Teor Alcoólico

O açúcar tem origem na fotossíntese das folhas e chega á uva sob a forma de sacarose. Aqui é hidrolisada em glucose e frutose que são açúcares fermentáveis ¹⁴⁰. Ao longo da maturação das uvas o teor de açúcares aumenta, existindo quantidades de glucose e frutose muito semelhantes. Em termos analíticos, faz-se um doseamento dos açúcares redutores, o que se faz indiretamente com um areómetro de massa volúmica, onde se determina a densidade e temperatura do mosto. Desta forma é

possível obter o teor alcoólico provável, que representa o teor alcoólico que se irá obter no fim da fermentação do mosto em análise. Para tal, divide-se o teor de açúcares em g/L por fator que traduz a quantidade de açúcar necessária para obter o teor alcoólico de 1% v/v ou 1 grau de álcool.¹⁴

O etanol ou álcool etílico é o constituinte qualitativamente mais importante do vinho, depois da água. A riqueza do vinho expressa-se mediante a graduação alcoólica que representa a percentagem em volume, de álcool no vinho, sendo que o etanol no vinho é proveniente da fermentação alcoólica do açúcar do mosto. Sabe-se que se necessita de 16 a 18g/L de açúcar, segundo o tipo de vinificação e o rendimento fermentativo das leveduras para produzir durante a fermentação alcoólica, 1% volume de álcool. Os mostos devem conter 180 ou 226 e 288g/L de açúcar para obter, sobre a base do rendimento fermentativo menor, 10%, 10,6% ou 14% de etanol¹⁶. O grau alcoólico é igual ao número de litros de álcool etílico contido em 100 litros de vinho, sendo os dois volumes medidos a 20°C. Os demais álcoois encontrados no vinho também participam do grau alcoólico em volume. O método por destilação se baseia na diferença da densidade da água e do álcool.¹³⁸

O álcool é um dos mais relevantes fatores de qualidade no vinho, quer pelo seu grau alto ou baixo, quer pela sua origem (através da fermentação alcoólica, por meio das leveduras), quer pela influencia direta ou indireta que exerce nas características organoléticas dos vinhos, quer pelo papel que executa na própria conservação do mesmo.¹⁴

Procedimento:

Após a limpeza e calibração do ebulliômetro com água destilada, sendo que este deve ser limpo com a amostra de vinho que se irá utilizar na medição, para assim eliminar resíduos de água e possíveis químicos utilizados na limpeza do aparelho. De seguida ver-te o vinho para o ebulliômetro de modo a que o termómetro esteja submerso no vinho e espera-se que o vinho entre em ebulição. Após isso acontecer, faz-se a leitura da temperatura de ebulição no termómetro e depois converte-se para percentagem de etanol.



Figura 29. Ebuliómetro

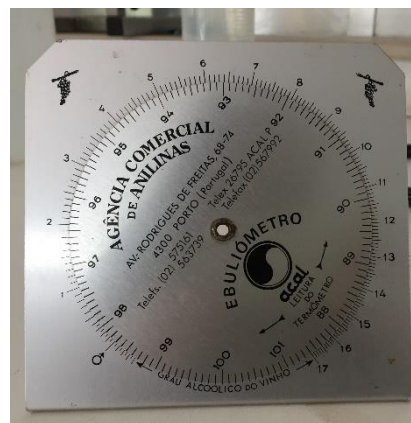


Figura 28. Utensílio usado para a conversão em percentagem de etanol.

2.2.3 pH

O pH do vinho corresponde à concentração de iões de hidrogénio dissolvido no mesmo.⁷⁴

Segundo De Ávila 2002, o pH é particularmente importante em seu efeito:

- Sobre os microrganismos, o pH determina a resistência do vinho á alterações microbianas;
- Sobre a intensidade da cor;
- Sobre o sabor;
- Sobre o potencial de oxi-redução

- Sobre a taxa de SO_2 livre e combinado. A pH mais baixo, maior a fração livre de SO_2 ;
- Sobre a suscetibilidade de turvação pelo fosfato de ferro. O pH baixo, aumenta a solubilidade dos compostos das casses (composto com excesso de ferro);
- Sobre a precipitação de bitartarato de potássio;
- Sobre a atividade enzimática;
- Sobre a clarificação dos vinhos por colagens proteicos, sendo mais difícil quando menor o pH;

O pH do vinho é muito importante para os produtores de vinho, visto que este influencia a estabilidade microbiana e a resistência á oxidação durante a vinificação. O pH é medido através do potenciômetro, vai aumentando ao longo da maturação das uvas, estando assim diretamente relacionado com a acidez da uva, que vai diminuindo.¹⁴¹

Procedimento:

O aparelho deve ser calibrado com a solução tampão de pH 7,0 e 3,0 de preferência á uma temperatura ambiente de 20°C. Entre a calibração das duas soluções e no fim, lava-se o elétrodo com água destilada. Depois de calibrado o aparelho, coloca-se a amostra num gobelé de 100mL e mergulha-se o elétrodo no liquido. Uma vez estabilizado, faz-se a leitura do pH no aparelho.



Figura 30. Potenciômetro

2.2.4 Acidez Volátil

A acidez volátil de um vinho formada principalmente pelo ácido acético normalmente durante a fermentação do mosto pelas leveduras e outros microrganismos, podem aumentar seu teor normal durante a elaboração e a conservação do vinho como consequência de uma enfermidade microbiológica (a mais comum é a fermentação acética, provocada pela bactéria acética).¹⁶

Acidez volátil é o conjunto de ácidos gordos da série acética, que se encontram num vinho na forma livre ou esterificada, sendo o principal o ácido acético que é facilmente removível por destilação. Excluem-se da acidez volátil os ácidos lácticos e sucínicos, o ácido carbónico e o anidrido sulfuroso livre. Os vinhos novos contêm acidez volátil mínima, que foi produzida na fermentação alcoólica e na malolática. A partir daí uma elevação significa a presença de alterações, principalmente devido a bactérias acéticas. A quantidade de ácidos voláteis produzidos pelas leveduras varia conforme as condições da fermentação, composição do mosto e espécies de levedura.¹³⁸

Procedimento:

O princípio desta determinação baseia-se na titulação dos ácidos voláteis, com solução de NaOH 0,1N padronizada (indicador fenolftaleína), sendo que antes da titulação a amostra é destilada.



Figura 31. Destilador Cazenave-Ferré.

Após a destilação, com o valor gasto na titulação consegue-se saber a quantidade de acidez volátil, através de uma tabela que existe na Adega, contudo também existe uma formula para isso.

$$Av = \frac{n \times N \times Eq \times f}{10 \times V}$$

Av = acidez volátil, em gramas de ác. Acético/100 mL da amostra.
n = volume da solução de hidróxido de sódio gastos na titulação em mL.
N = normalidade da solução de hidróxido de sódio
Eq. = equivalente grama do ácido acético
V = volume da amostra em mL.
f = fator de diluição

Figura 32. Formula da acidez volátil.

2.2.5 Acidez Total

Durante a maturação da uva existe um marcado decréscimo na concentração de diversos ácidos, visto que existe um nível ótimo de acidez para a sua colheita. Geralmente, a faixa de acidez total nos mostos e vinhos situa-se entre os 4 a 9g/L. Os vinhos contem os ácidos do mosto mais os ácidos de fermentação (ex: a cético, propiônicos, pirúvico, láctico). Os ácidos dão características de sabor e de flavour no vinho. A determinação da acidez total é importante para os seguintes pontos:

- Nos mostos:
 - Realização de uma colheita com base num nível ótimo de acidez e pH;
 - Determinação de anidrido sulfuroso que se deve adicionar no mosto;
 - Determinação da necessidade de correção da acidez do mosto;
- Uma acidez normal nos mostos assegura:
 - Fermentação é evolução normal nos vinhos;
 - Sabor mais agradável e cor mais viva;
- Nos vinhos:
 - Importantes para a caracterização dos vinhos e padronização dos mesmos;
 - Reconhecimento de fraudes;
 - Controle de alterações indesejáveis por microrganismos;
 - Acompanhamento da fermentação malolática;
 - Acompanhamento da estabilização tartárica;

Não estão incluídos na acidez total o anidrido carbônico e o anidrido sulfurosos.¹⁴

Os principais ácidos que fazem parte da uva são o ácido tartárico, o ácido málico e o ácido cítrico. A acidez total de um mosto é expressa na quantidade de ácido tartárico, sendo este o mais forte dos três ácidos citados anteriormente.^{129,130}

A acidez total é máxima no início da maturação, no entanto, este parâmetro vai diminuindo ao longo da maturação. Este processo ocorre visto que a planta utiliza os ácidos na sua respiração e produção de energia, e quanto maior for o calor, mais intenso é a respiração e a degradação dos ácidos.¹⁴¹

Procedimento:

Medir 10mL da amostra para um balão volumétrico, junta-se 2mL de azul de bromotinol. Titula-se a amostra com uma solução de hidróxido de sódio a 0,1N até a amostra apresentar uma cor azulada/esverdeada. Após a titulação, calcula-se a acidez total do vinho.

$$AT=0,25 \times V_{\text{gasto}}$$

2.2.6 Sulfuroso Total e Livre

A generalização do uso de anidrido sulfuroso (às vezes denominado dióxido de enxofre, ou simplesmente SO_2) para a elaboração de vinhos, remonta aparentemente ao final do século XVIII. As suas numerosas propriedades a fazem um auxiliar indispensável nas práticas das vinícolas. Importantes progressos no conhecimento da química do anidrido sulfuroso e das suas propriedades tem permitido racionalizar o seu emprego no vinho e diminuir consideravelmente as doses empregadas.¹⁶

Segundo Ribéreau-Gayon et al. 2006b, suas principais propriedades são:

- Antisséptico, inibe o desenvolvimento dos microrganismos. Evita deste modo a formação de turbidez por leveduras, a refermentação de vinhos doces, o desenvolvimento de leveduras micodérmicas (flor) e das diferentes alterações bacterianas. Sua atividade é maior sobre as bactérias do que sobre as leveduras;

- Antioxidante, combina em presença de catalisadores. O SO_2 preserva os vinhos de uma oxidação muito intensa dos compostos fenólicos e de alguns elementos de aroma;
- No mosto age como antioxidante, inibindo instantaneamente o funcionamento das enzimas de oxidação (tirosinase e lacase), antes do início da fermentação. Evita igualmente a casse oxidativa dos vinhos brancos e tintos provenientes de uvas com podridão;
- Ao combinar-se com etanol e outros produtos similares protege o aroma dos vinhos.

O anidrido sulfuroso empregado, em solução aquosa, apresenta-se em equilíbrio entre diferentes formas de dissociação. Em mostos e vinhos a forma que predomina é o ião bissulfito (HSO_3^-). Este rapidamente estabelece o equilíbrio da combinação bissulfídica com os açúcares e durante a fermentação, com os compostos carbonílicos, metabólitos intermediários, particular com o etanol. O anidrido sulfuroso quando adicionado ao vinho, parte dele combina-se com compostos carbonílicos, como: etanol, açúcares, ácido pirúvico, ácido α -cetoglutárico entre outros. A outra fração mantém-se em estado livre atuando como anti-sépticos. ⁶⁷

A fração livre encontra-se na maior parte em forma de sais de ácidos ou bissulfetos. Também ocorrem nas formas de ácido sulfuroso não dissociado (H_2SO_3), ião bissulfito, sulfuroso totalmente dissociado (SO_3^-) e SO_2 molecular. A forma mais ativa sobre o sistema metabólico da bactéria é o SO_2 molecular (gasoso e dissolvido). O seu princípio de ação dá-se pela destruição de proteínas enzimáticas, o bloqueio de funções potencializa-se pelo álcool. O SO_2 combinado é menos ativo que o SO_2 livre, mas é preciso levar em conta que pode ser cinco a dez vezes mais abundante no vinho. A ação do SO_2 pode ser bacteriostática ou bactericida, dependendo da sua concentração. Concentração de SO_2 total entre 0,10 e 0,15g/L é suficiente para afetar o crescimento das bactérias lácticas, de modo que não é recomendável utilizar concentrações superiores a 0,04 ou 0,05g/L se a fermentação malolática é desejada. As doses de 50 a 100mg/L de SO_2 total ou de 5 a 10 mg/L de SO_2 livre são suficientes para inibir o crescimento microbiano. ⁷⁸

Procedimento para determinação do sulfuroso total:

Num balão de Erlenmeyer de 500mL, verte-se 50mL da amostra e 25mL de hidróxido de potássio, espera-se 5 minutos. Após o tempo terminar junta-se 10mL de

ácido sulfúrico a 10% e 2mL de cozimento de amido, de seguida titula-se com uma solução de SO₂ total do vinho.

$$\text{SO}_2 \text{ Total} = V_i \times 20$$

Procedimento para determinação do sulfuroso livre:

Colocam-se 50mL da amostra, para um balão de Erlenmeyer de 500mL. Junta-se à amostra 5mL de ácido sulfúrico a 10% e 2mL de cozimento de amido. Titula-se a amostra com uma solução de iodo de 0,05N. Após a titulação, calcula-se o teor de SO₂ livre no vinho.

$$\text{SO}_2 \text{ Livre} = V_i \times 20$$

2.3 Análise Sensorial

Para a realização da análise sensorial, recorreu-se a um painel treinado de doze provadores, pertencentes à Adega Cooperativa de Vila Real. A avaliação sensorial decorreu numa sala de prova de acordo com as normas ISO 11035:1994 e ISO 4121:2003. As duas amostras dos vinhos foram servidas em copos de vidro, separadamente, sendo que as amostras foram identificadas e codificadas.

No intervalo de cada uma das provas, foram fornecidas bolachas aos provadores para que o paladar de cada amostra não influenciasse a prova bem como a utilização de água mineral entre as provas.

Cada elemento do painel de provadores realizou uma análise descritiva quantitativa (ADQ), com o objetivo de identificar e quantificar os atributos sensoriais de um produto (cor, textura, aroma, sabor característico e residual e flavour), utilizando uma escala de cinco pontos, (0 - menos intenso; 5 - mais intenso).

2.4 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada a todos os testes analíticos com recurso ao software Excel 2016 da Microsoft®, de modo a fazer uma análise de variância através do teste t de Student (teste paramétrico). Deste modo, avaliou-se a existência de diferenças significativas entre as amostras, foi utilizado um nível de significância de 5% para todos os testes.

3 Resultados e Discussão

3.1 Parâmetro Físico e Químicos

Após o vinho sofrer todo o seu processamento e ser engarrafamento, foram realizadas as análises necessárias, a fim de, recolher os pretendidos resultados. Na tabela abaixo, encontram-se os resultados das análises aos parâmetros físicos e químicos. Sendo que o código C3 representa o vinho de mesa, multicasta e o código C46 representa o vinho Rabigato, monocasta, da Adega de Vila Real.

Tabela 4. Resultados das análises analíticas.

Determinação	Resultado	
	C3	C46
Densidade	0,9902	0,9911
pH	3,24	2,84
Teor alcoólico (%v/v)	13,28%	13,05%
Sulfuroso livre (mg/dm ³)	47	12
Sulfuroso total (mg/dm ³)	125	58
Acidez Volátil (g/dm ³)	0,250	0,290
Acidez Total (g/dm ³)	4,19	6,24

Da análise da Tabela 4, verifica-se que em relação à densidade os valores são bastante próximos, como seria de esperar, visto que a densidade diminui progressivamente ao longo da fermentação. A diminuição da densidade dá-se porque ao longo da fermentação a glicose está a ser consumida e consequentemente álcool produzido. Este parâmetro, serve mais como um controle para controlar a fermentação. ¹³⁸

O teor alcoólico dos vinhos em estudo, apresenta-se dentro dos padrões mínimos propostos pela legislação, sendo que para este parâmetro o valor máximo é 14% e o mínimo é o 8,6%. O etanol é o principal produto da fermentação do mosto, conferindo qualidade e impedindo o desenvolvimento de agentes patogénicos no vinho. A quantidade de álcool encontrada nos vinhos depende do teor de açúcar presente na uva. ¹⁴²

A determinação da acidez fornece dados importantes na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício, uma vez que à medida que ocorre o amadurecimento, o teor de ácido diminui.¹⁴³ Industrialmente, o teor elevado de acidez é benéfico, pois diminui a necessidade da adição de acidificantes, além de melhorar a segurança alimentar e qualidade organolética. O conhecimento do pH dos vinhos é importante, pois a partir dele é possível avaliar a sua resistência a infecção bacteriana. Vinhos com pH 3,4 apresentam melhor resistência as alterações oxidativas e à infecção bacteriana do que outros com pH 3,8.¹⁴⁴ O pH determina o potencial hidrogeniônico, de uma solução e se relaciona inversamente com a acidez, em função disto, define suficientemente a sua acidez, o que não ocorre com a acidez total, visto que esta apenas fornece a soma dos ácidos livres, sem ter em conta a sua força.^{142,144} Os resultados obtidos relativamente ao parâmetro pH encontram-se expressos na Tabela 4. Uma observação atenta aos valores de pH verifica-se que os valores são semelhantes entre as duas amostras.

A acidez volátil do vinho é constituída de ácidos voláteis (ácido acético, propiónico e butírico), sendo o ácido acético o componente principal. O baixo teor em acidez volátil indica a boa sanidade do produto, indicando não haver contaminação por bactérias.¹⁴⁴ Através da análise a Tabela, observamos que o valor da acidez volátil para os vinhos é baixo, quase nula, sendo que se pode concluir que os vinhos não têm contaminação por bactérias.

A acidez total é máxima no início da maturação, contudo vai diminuir ao longo da maturação, isto dá-se devido que a planta utiliza os ácidos ao longo da maturação.¹⁴¹ A acidez total é a soma de todos os ácidos tituláveis a pH 7 excluindo o CO₂ e qualquer fração de SO₂. Assim pode-se considerar a acidez total como um índice representativo da acidez de um vinho é formada por todos os componentes com características ácidas, tituláveis a pH 7 por uma solução alcalina, independentemente da sua volatilidade (Reg. (CE) nº.491/2009).

O SO₂ total é o conjunto de todas as formas, livres e combinada, de dióxido de enxofre presentes no vinho. A legislação aponta para valores máximo entre 80-200 mg/dm³ para o SO₂ total, para o SO₂ livre os valores máximos apontam para 10-58 mg/dm³ (Reg. (CE) nº. 606/2009). Ambas as amostras se encontram dentro dos valores máximos, contudo apresentam diferenças, em que o vinho Rabigato apresenta maior valor tanto para o SO₂ total e livre.

3.2 Análise Sensorial

Os resultados relativos ao perfil sensorial da prova sensorial foram avaliados segundo um gráfico aranha que permite verificar a pontuação atribuída pelos vários provadores a cada atributo, permitindo assim observar as suas semelhanças e diferenças. O centro do gráfico corresponde ao valor mínimo da escala (1) e a extremidade à pontuação máxima 5. Assim, a média de cada atributo é assinalada e é traçado o gráfico com a junção dos pontos.

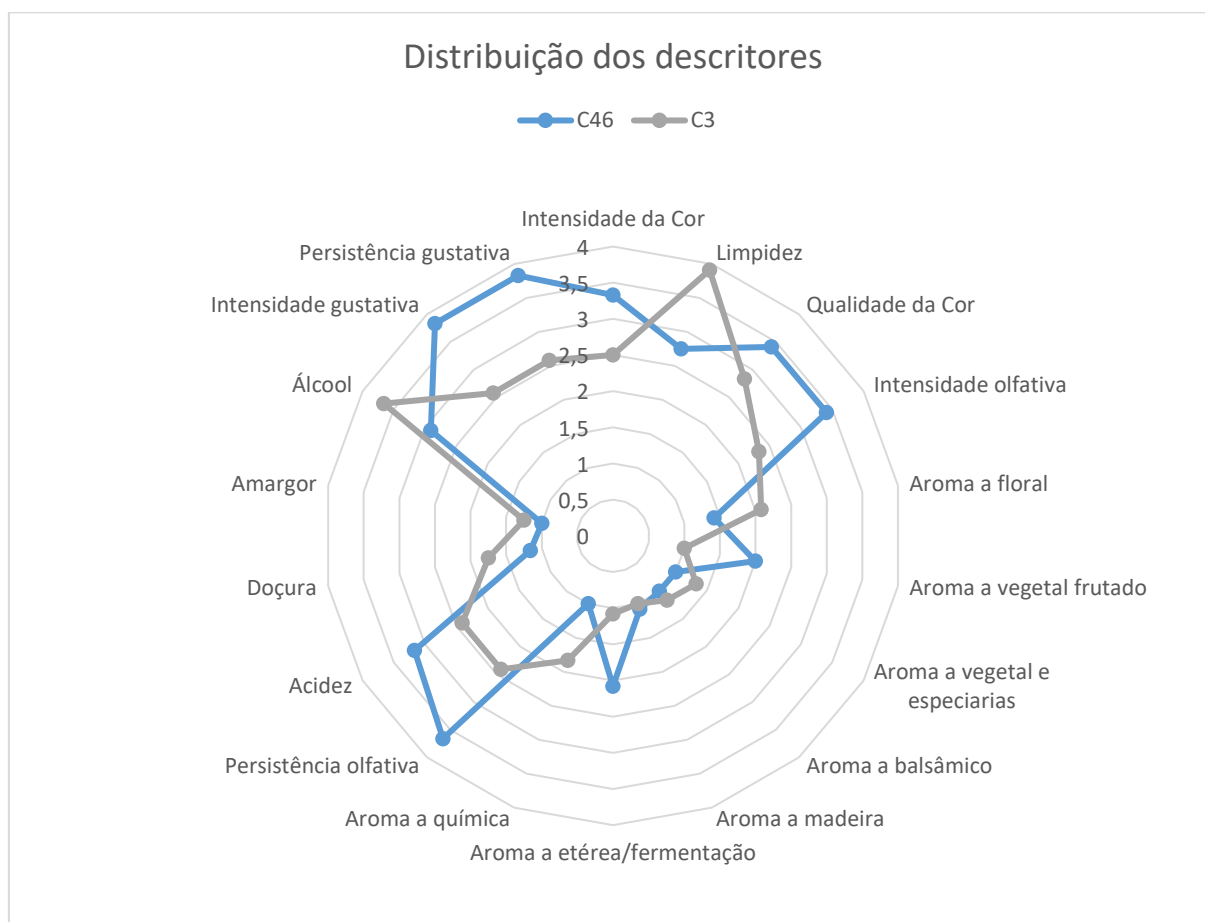


Figura 33. Perfil sensorial dos vinhos em análise.

Na Figura 33, pode-se observar que o vinho com o código C46 foi o que recebeu uma pontuação significativamente maior ao nível dos atributos *qualidade da cor*, *intensidade olfativa*, *persistência olfativa*, *intensidade gustativa* e *persistência gustativa*. Os descritores *limpeza* e *álcool* são os mais pontuados no vinho com o código C3.

3.2.1 Teste t de Student

Realizou-se o teste t de student, teste paramétrico, que consiste em avaliar se existe diferenças significativas entre si, através das médias, nos atributos que se pertence analisar. Este teste consiste em formular uma hipótese nula e consequentemente uma hipótese alternativa, em que apos se aplicar este teste, no fim se rejeita uma das hipóteses. Neste caso, a nossa hipótese nula é que não há diferenças entre as amostras e a hipótese alternativa é que há diferenças entre as amostras.

Pode-se analisar os resultados de duas maneiras, através do nível de significância (valor p) ou através do valor de t calculado e t real. No caso de ser pelo o nível de significância, se o valor de p é superior ao nível de significância aceitamos a hipótese nula, caso contrario aceitamos a hipótese alternativa. Por outro lado, se for através dos valores de t, em que o stat t e o t calculado (conhecido também pelo t previsto) e o t crítico é o t real, se o stat t é menor que o t critico aceitamos a hipótese nula, caso contrario rejeitamos a hipótese nula e aceitamos a hipótese alternativa.

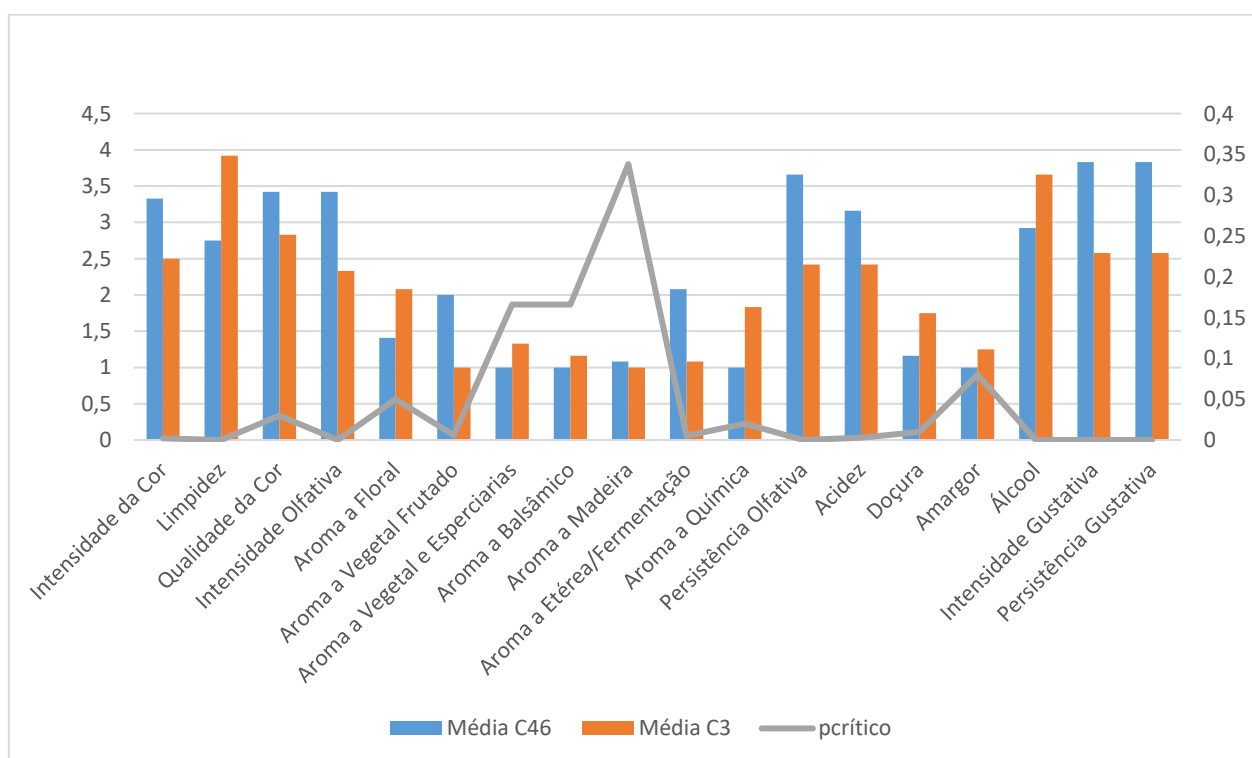


Figura 34. Resultados referentes a todos os atributos analisados pelo Teste t de Student.

Através da análise da figura, acima, concluímos que os atributos: intensidade da cor, limpidez, qualidade da cor, intensidade olfativa, aroma a

vegetal frutado, aroma a etérea/fermentação, aroma a química, persistência olfativa, acidez, doçura, álcool, intensidade gustativa e persistência gustativa apresentam diferenças significativas entre si, visto que o valor p é inferior ao nível de significância (0,05). Por sua vez, os atributos aroma a floral, aroma a vegetal e especiarias, aroma a balsâmico, aroma a madeira e amargor não apresentam diferenças entre si.

Teste de preferência simples

O teste de preferência simples consiste em escolher a amostra preferida, neste caso, os provadores tinham presente duas amostras codificadas, na qual tinha que escolher a amostra de que gostam mais. Este teste foi realizado a nível de curiosidade, afim de perceber qual o vinho preferido. A figura 34 apresenta os resultados obtidos neste teste.



Figura 35. Percentagem das amostras preferidas.

Através da análise dos resultados obtidos, verificou-se que a amostra preferida pelo painel de provadores foi a amostra com o código C46, correspondente ao Vinho Rabigato (monocasta), com cerca de 66,66% de preferência. A amostra de Vinho de Mesa (multicasta), com código C3, não é preferida pelo painel pois a sua

percentagem de aceitação é inferior a outra amostra com apenas 33,33% de aceitação.

4 Conclusão

O processo de produção de um vinho de qualidade é complexo. Para além de todos os fatores inerentes à produção vitícola, fatores edafoclimáticos, nomeadamente, a escolha do sistema de condução, a seleção das castas e os tratamentos fitossanitários, os métodos e meios usados durante a vinificação também influenciam de forma determinante a formação do vinho, podendo afirmar-se que o vinho é obtido a partir das interações entre todos estes fatores.⁷⁰

A etapa do processo de vinificação que contribui mais para as características finais do vinho é a fermentação, contudo não se podem excluir os outros procedimentos que, de uma forma mais ou menos acentuadas, também influenciam as características do vinho. Por isso, o conhecimento do processo de vinificação e de todos os compostos intervenientes nele é essencial para um controlo eficaz. O enólogo também tem um papel importante na produção do vinho, visto ser ele que prova e faz as modificações necessárias, sendo que faz um controlo do processo através de análises químicas, microbiológicas e sensoriais.¹⁴⁵

A importância das fermentações está muito associada aos microrganismos presentes no meio, através de inoculações, flora natural ou contaminações. Estes microrganismos são responsáveis pela modificação dos mostos e produção de compostos que alteram as qualidades organoléticas do vinho. Os teores e a variedade dos compostos obtidos estão muito associados à composição química do meio e à quantidade e diversidade de microrganismos que o compõem. A evolução destes processos já permitiu a diminuição da variedade de espécies microbianas que interferem na fermentação.^{16,36}

Neste presente estudo, foram analisados dois vinhos brancos, uma monocasta e outro multicasta, em que através de uma análise analítica e de uma prova sensorial, sendo a sua finalidade comprar estes dois vinhos e ver quais as diferenças significativas a nível sensorial. Em relação às análises analíticas, concluímos que ambos os vinhos têm os parâmetros dentro dos valores da legislação.

Na análise sensorial realizada, concluímos que as amostras são diferentes entre si em todos os atributos testados, menos nos seguintes atributos: aroma a vegetal e especiarias, aroma a balsâmico, aroma a madeira e amargor. Na avaliação visual concluímos que o vinho monocasta, Rabigato, tem mais intensidade na cor e melhor qualidade dela, contudo o vinho multicasta, vinho de mesa da Adega, tem um vinho menos turvo. Na avaliação olfativa, o vinho Rabigato tem uma intensidade e

persistência mais forte que o vinho de mesa, contudo o vinho de mesa apresenta um aroma floral e o Rabigato um aroma vegetal frutado. Na avaliação gustativa, o vinho de mesa apresenta uma maior doçura que o vinho Rabigato que por sua vez apresenta uma maior acidez, sendo que este também apresenta uma maior intensidade e persistência. Na prova de análise sensorial, também se realizou o teste de preferência, em que o vinho que obteve maior votação foi o Rabigato.

Bibliografia

1. Ribereau-Gayon P. New developments in wine microbiology. *Am J Enol Vitic.* 1985;36(1):1-10. <http://www.ajevonline.org/content/36/1/1.full.pdf>.
2. König H, Unden G, Fröhlich J. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine.*; 2009. doi:10.1007/978-3-540-85463-0.
3. Orlando Borges S. *Iniciação Ao Vinho*. 3ª Edição. (Florianópolis: Editora da UFSC, ed.); 1991.
4. Keys D. Now That's What I Call a Real Vintage: Professor Unearths 8,000-Year-Old Wine.
5. IVV // A Vinha e o Vinho em Portugal. <http://www.ivv.gov.pt/np4/91.html>. Accessed November 6, 2017.
6. Jackson RS. Wine Tasting: a Professional Handbook. *Food Qual Prefer.* 2002;15(6):607. doi:10.1016/B978-0-12-374181-3.
7. IVV // Home. <http://www.ivv.gov.pt/np4/home.html>. Accessed November 7, 2017.
8. IVV // Produção. <http://www.ivv.gov.pt/np4/36/>. Accessed February 15, 2018.
9. Adega Cooperativa de Vila Real (2017). *História e o seu projeto total marketing de vinho da Adega Cooperativa de Vila Real*. (Documento interno fornecido pela empresa, não publicado).
10. Costa, A.J., Silva H. Adega Cooperativa de Vila Real de boa saúde, 20 anos depois da falência técnica. Notícias de Vila Real. <http://www.noticiasdevilareal.com/noticias/index.php?action=getDetalhe&id=15992>. Published 2013. Accessed November 8, 2017.
11. Larguesa A. Adega de Vila Real dá de 'beber á dor' dos colossais anos 90. Jornal de Negócios. http://www.jornaldenegocios.pt/empresas/detalhe/adega_de_vila_real_da_de_beber_a_d_or_dos_colossais_anos_90.html. Published 2013. Accessed November 8, 2017.
12. Larguesa A. Adega de Vila Real vence maior concurso de vinhos do Canadá na categoria de rosés. Jornal de Negócios. http://www.jornaldenegocios.pt/empresas/agricultura_e_pescas/vinho/detalhe/adega_de_vila_real_tem_o_melhor_rose_no_canada.html. Published 2014. Accessed November 8, 2017.
13. Vinhos R de. Os melhores do ano 2012. Revista de vinhos. <http://www.revistadevinhos.pt/artigos/evento.aspx?evento=79&title=os-melhores-doano-2012>. Published 2013. Accessed November 8, 2017.
14. Cardoso AD. *O Vinho - Da Uva à Garrafa*. Ancora-P.; 2007.
15. Grainger K, Tattersall H. *Wine Production: Vine To Bottle.*; 2007. doi:10.1002/9780470995600.
16. Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. *Handbook of Enology: The Microbiology of Wine and Vinifications*. Vol 2.; 2006. doi:10.1002/0470010398.

17. Liu G. Wine Microbiology: Science and Technology. *J Biopharm Stat.* 2013. doi:10.1080/10543406.2013.834796.
18. Instituto dos Vinhos do Douro e Porto. <https://www.ivdp.pt/pagina.asp?codPag=69>. Accessed February 15, 2018.
19. Reynolds AG. *Managing Wine Quality: Viticulture and Wine Quality*.; 2010. doi:10.1533/9781845699284.
20. Pierre J, Marilde T. VINHOS ESPUMANTES : MÉTODOS DE ELABORAÇÃO. *Evidência.* 2013;13(1):65-77.
21. Cardoso AD. *Tecnologia de Vinhos Espumantes*. Coimbra: Â.; 2005.
22. Pinstup-Andersen P. Food security: definition and measurement. *Food Secur.* 2009. doi:10.1007/s12571-008-0002-y.
23. Aggelogiannopoulos D, Drosinos EH, Athanasopoulos P. Implementation of a quality management system (QMS) according to the ISO 9000 family in a Greek small-sized winery: A case study. *Food Control.* 2007. doi:10.1016/j.foodcont.2006.07.010.
24. Martins RB, Hogg T, Otero JG. Food handlers' knowledge on food hygiene: The case of a catering company in Portugal. *Food Control.* 2012. doi:10.1016/j.foodcont.2011.07.008.
25. Lanfranco Paronetto. *Biotechnologia & Qualità Del Vino*. 2nd ed. (Gruppo editoriale Omnibus 2010, ed.). Itália; 2009.
26. Guid e de bonnes pratiques d ' hygiène Filière vins Évaluation des risques et moyens de maîtrise. 2016.
27. Troller JA. *Sanitation in Food Processing*. second edi.; 1993.
28. Crowe, Alison. Wine Microbiology. In: *Microbiology.* ; 2002. doi:10.1007/978-0-387-33349-6.
29. Foschino R, Gallina S, Andrighetto C, Rossetti L, Galli A. Comparison of cultural methods for the identification and molecular investigation of yeasts from sourdoughs for Italian sweet baked products. *FEMS Yeast Res.* 2004;4(6):609-618. doi:10.1016/j.femsyr.2003.12.006.
30. Kurtzman CP. Yeast systematics - From phenotype to genotype. *Food Technol Biotechnol.* 1998;36(4):261-266.
31. Fung DYC. Yeasts and Molds. In: *Encyclopedia of Meat Sciences.* ; 2014:395-404. doi:10.1016/B978-0-12-384731-7.00043-X.
32. Peterkin PI. Compendium of methods for the microbiological examination of foods (3rd edn). *Trends Food Sci Technol.* 1993;4(1939):199. doi:10.1016/0924-2244(93)90131-S.
33. Fleet GH. Yeast interactions and wine flavour. *Int J Food Microbiol.* 2003;86(1-2):11-22. doi:10.1016/S0168-1605(03)00245-9.
34. Arnink K, Henick-Kling T. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* and *Oenococcus oeni* Strains on successful malolactic conversion in wine. *Am J Enol Vitic.* 2005;56(3):228-237.
35. Fleet G. Spoilage yeasts. *Crit Rev Biotechnol.* 1992;12(1-2):1-44. doi:10.3109/07388559209069186.

36. Fleet GH. Wine Microbiology and Biotechnology. *Wine Microbiol Biotechnol*. 1993;374-375,384,834.
https://books.google.com/books?hl=iw&lr=&id=vd_0mtncI0QC&pgis=1.
37. Davidson PM, Taylor TM. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ; 2007:713-734. doi:10.1128/9781555815912.
38. Fleet GH, Lafon-Lafourcade S, Ribereau-Gayon P. Evolution of yeasts and lactic acid bacteria during fermentation and storage of Bordeaux wines. *Appl Environ Microbiol*. 1984;48(5):1034-1038.
39. Yang C-H. Fermentation. In: *Bakery Products*. ; 2006:261-272. doi:10.1002/9780470277553.ch14.
40. Chisti Y. Fermentation Technology. In: *Industrial Biotechnology: Sustainable Growth and Economic Success*. ; 2010:149-171. doi:10.1002/9783527630233.ch3.
41. Van Rensburg P, Pretorius IS. Enzymes in winemaking: Harnessing natural catalysts for efficient biotransformations- A review. *South African J Enol Vitic*. 2000;21(Special Issue):52-73.
42. Alexandre H, Costello PJ, Remize F, Guzzo J, Guilloux-Benatier M. *Saccharomyces cerevisiae*-*Oenococcus oeni* interactions in wine: Current knowledge and perspectives. *Int J Food Microbiol*. 2004;93(2):141-154. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2003.10.013.
43. Moreno-Arribas MV, Polo MC. Winemaking biochemistry and microbiology: Current knowledge and future trends. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2005;45(4):265-286. doi:10.1080/10408690490478118.
44. Renouf V, Claisse O, Lonvaud-Funel A. Inventory and monitoring of wine microbial consortia. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2007;75(1):149-164. doi:10.1007/s00253-006-0798-3.
45. Carreté R, Vidal MT, Bordons A, Constantí M. Inhibitory effect of sulfur dioxide and other stress compounds in wine on the ATPase activity of *Oenococcus oeni*. *FEMS Microbiol Lett*. 2002;211(2):155-159. doi:10.1016/S0378-1097(02)00687-0.
46. Cappello MS, Bleve G, Grieco F, Dellaglio F, Zacheo G. Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from must of grape grown in experimental vineyard. *J Appl Microbiol*. 2004. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02412.x.
47. Wibowo D, Eschenbruch R, Davis CR, Fleet GH, Lee T. Occurrence and growth of lactic acid bacteria in wine: a review. *Am J Enol Vitic*. 1985;36(4):302-313. <http://www.ajevonline.org/content/36/4/302.short>.
48. Chatonnet P, Boidron JN, Dubourdieu D, Pons M. Influence des conditions d'levage et de sulfitage des vins rouges en barriques sur leur teneur en acide acétique et en ethyl-phenols. *JIntSciVigne Vin*. 1993;27(4):277-298.
49. Chatonnet P, Dubourdie D, Boidron J -n, Pons M. The origin of ethylphenols in wines. *J Sci Food Agric*. 1992;60(2):165-178. doi:10.1002/jsfa.2740600205.
50. Loureiro V, Malfeito-Ferreira M. Spoilage yeasts in the wine industry. *Int J Food Microbiol*. 2003;86(1-2):23-50. doi:10.1016/S0168-1605(03)00246-0.

51. Pretorius IS, van der Westhuizen TJ, Augustyn OPH. Yeast Biodiversity in Vineyards and Wineries and Its Importance to the South African Wine Industry. *South African J Enol Vitic.* 1999;20(2):61-75. doi:10.21548/20-2-2234.
52. Ganga MA, Martínez C. Effect of wine yeast monoculture practice on the biodiversity of non-Saccharomyces yeasts. In: *Journal of Applied Microbiology.* Vol 96. ; 2004:76-83. doi:10.1046/j.1365-2672.2003.02080.x.
53. Calhelha RC, Andrade J V., Ferreira IC, Estevinho LM. Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process. *Food Microbiol.* 2006;23(4):393-398. doi:10.1016/j.fm.2005.04.008.
54. Martini A, Ciani M, Scorzett G. Direct enumeration and isolation of wine yeasts from grape surfaces. *Am J Enol Vitic.* 1996;47(4):435-440.
55. Inc CL, Only USE. Yeast Protocols Handbook. *Yeast.* 2008;1(July):1-66. doi:10.1385/1592599583.
56. König H, Fröhlich J. Lactic acid bacteria. In: *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine.* ; 2009:3-29. doi:10.1007/978-3-540-85463-0_1.
57. Bartowsky EJ. Bacterial spoilage of wine and approaches to minimize it. *Lett Appl Microbiol.* 2009. doi:10.1111/j.1472-765X.2008.02505.x.
58. German JB, Walzem RL. *The Health Benefits of Wine.* Vol 20.; 2000. doi:10.1146/annurev.nutr.20.1.561.
59. Kandler O. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 1983;49(3):209-224. doi:10.1007/BF00399499.
60. Santiago AC, Munoz R, Garcia RG. *Molecular Wine Microbiology.*; 2011. doi:10.1016/C2009-0-01909-6.
61. Plata C, Millán C, Mauricio JC, Ortega JM. Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts. *Food Microbiol.* 2003;20(2):217-224. doi:10.1016/S0740-0020(02)00101-6.
62. Romano P, Suzzi G, Comi G, Zironi R. Higher alcohol and acetic acid production by apiculate wine yeasts. *J Appl Bacteriol.* 1992;73(2):126-130. doi:10.1111/j.1365-2672.1992.tb01698.x.
63. Claus H. Microbial enzymes: Relevance for winemaking. In: *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine.* ; 2017. doi:10.1007/978-3-319-60021-5_13.
64. Lafon Lafourcade S, Carre E, Ribereau Gayon P. Occurrence of lactic acid bacteria during the different stages of vinification and conservation of wines. *Appl Environ Microbiol.* 1983;46(4):874-880.
65. Fleet GH. Wine Microbiology and Biotechnology. *Wine Microbiol Biotechnol.* 1993.
66. Carreté R, Reguant C, Rozès N, Constantí M, Bordons A. Analysis of *Oenococcus oeni* strains in simulated microvinifications with some stress compounds. *Am J Enol Vitic.* 2006;57(3):356-362.
67. Curvelo-Garcia A. *Controlo de Qualidade Dos Vinhos - Química Enológica, Métodos Analíticos.* (Vinho I da V e do, ed.); 1988.
68. Pérez-Magariño S, González-San José ML. Polyphenols and colour variability of red wines made from grapes harvested at different ripeness grade. *Food Chem.*

2006. doi:10.1016/j.foodchem.2005.02.021.
69. Plessis C Du. Optimum maturity and quality parameters in grapes: a review. *South African J Enol Vitic.* 1984;5(1):35-42. [http://www.sasev.org/journal-sajev/sajev-articles/volume-5-1/art5 grape quality parameters a review.pdf](http://www.sasev.org/journal-sajev/sajev-articles/volume-5-1/art5%20grape%20quality%20parameters%20a%20review.pdf).
 70. Jackson RS. *Wine Science: Principles and Application.*; 2008.
 71. Cheynier V, Schneider R, Salmon J, Fulcrand H. Chemistry of Wine. *Compr Nat Prod II.* 2010;1119-1172. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00088-5>.
 72. Navarre C. *Enologia - Técnicas de Produção Do Vinho.* Sintra; 1997.
 73. Monagas M, Bartolomé B, Gómez-Cordovés C. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2005;45(2):85-118. doi:10.1080/10408690490911710.
 74. Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine: Stabilization and Treatments: Second Edition.* Vol 2.; 2006. doi:10.1002/0470010398.
 75. Kennedy JA. Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Cienc e Investig Agrar.* 2008;35(2):77-90. doi:10.4067/S0718-16202008000200001.
 76. Valls J, Millán S, Martí MP, Borràs E, Arola L. Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *J Chromatogr A.* 2009;1216(43):7143-7172. doi:10.1016/j.chroma.2009.07.030.
 77. Paixão N, Perestrelo R, Marques JC, Câmara JS. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chem.* 2007;105(1):204-214. doi:10.1016/j.foodchem.2007.04.017.
 78. Zoecklein BW, Fugelsang KC, Gump BH, Nury FS. *Wine Analysis and Production.*; 1999. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.
 79. Jackson R. *Wine Science.*; 2008. doi:10.1016/B978-0-12-373646-8.X5001-X.
 80. B. Harborne J, A. Williams C. Anthocyanins and other flavonoids. *Nat Prod Rep.* 1998;15(6):631. doi:10.1039/a815631y.
 81. Núñez V, Monagas M, Gomez-Cordovés MC, Bartolomé B. Vitis vinifera L. cv. Graciano grapes characterized by its anthocyanin profile. *Postharvest Biol Technol.* 2004;31(1):69-79. doi:10.1016/S0925-5214(03)00140-6.
 82. Gutiérrez IH, Lorenzo ESP, Espinosa AV. Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. *Food Chem.* 2005;92(2):269-283. doi:10.1016/j.foodchem.2004.07.023.
 83. Heredia FJ, Francia-Aricha EM, Rivas-Gonzalo JC, Vicario IM, Santos-Buelga C. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes - I. pH effect. *Food Chem.* 1998;63(4):491-498. doi:10.1016/S0308-8146(98)00051-X.
 84. Kong J-M, Chia L-S, Goh N-K, Chia T-F, Brouillard R. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry.* 2003. doi:10.1016/S0031-9422(03)00438-2.
 85. Levi MAB, Scarminio IS, Poppi RJ, Trevisan MG. Three-way chemometric method study and UV-Vis absorbance for the study of simultaneous degradation

- of anthocyanins in flowers of the *Hibiscus rosa-sinensis* species. *Talanta*. 2004. doi:10.1016/j.talanta.2003.07.015.
86. Ignat I, Volf I, Popa VI. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem*. 2011;126(4):1821-1835. doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.026.
 87. Edwin H. In vino veritas: Oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. *Phytochemistry*. 1980;19(12):2577-2582. doi:10.1016/S0031-9422(00)83922-9.
 88. Hümmer W, Schreier P. Analysis of proanthocyanidins. *Mol Nutr Food Res*. 2008. doi:10.1002/mnfr.200700463.
 89. Dixon RA, Xie DY, Sharma SB. Proanthocyanidins - A final frontier in flavonoid research? *New Phytol*. 2005. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01217.x.
 90. Singleton VL. Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implications. *Am J Enol Vitic*. 1987.
 91. Reynolds AG. *Managing Wine Quality: Oenology and Wine Quality*.; 2010. doi:10.1533/9781845699987.
 92. Ouattara B, Jansen O, Angenot L, et al. Antisickling properties of divanilloylquinic acids isolated from *Fagara zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae). *Phytomedicine*. 2009. doi:10.1016/j.phymed.2008.10.013.
 93. Di Stefano R. Chemical methods in varietal characterization. *Riv Vitic Enol*. 1996.
 94. Ong BY, Nagel CW. Hydroxycinnamic Acid-Tartaric Acid Ester Content in Mature Grapes and During the Maturation of White Riesling Grapes. *Am J Enol Vitic*. 1978.
 95. Romeyer FM, Sapis J -C, Macheix J -J. Hydroxycinnamic esters and browning potential in mature berries of some grape varieties. *J Sci Food Agric*. 1985. doi:10.1002/jsfa.2740360813.
 96. Crouzet J. Arômes alimentaires. *Tech l'Ingénieur*. 1998.
 97. Nagel CW, Baranowski JD, Wulf LW, Powers JR. The Hydroxycinnamic Acid Tartaric Acid Ester Content of Musts and Grape Varieties Grown in the Pacific Northwest. *Am J Enol Vitic*. 1979.
 98. G. A. La décarboxylation des acides cinnamiques substitués par les levures. *Ann Technol Agric*. 1975:133-141.
 99. Dugelay I, Gunata Z, Sapis JC, Baumes R, Bayonove C. Role of Cinnamoyl Esterase Activities from Enzyme Preparations on the Formation of Volatile Phenols during Winemaking. *J Agric Food Chem*. 1993. doi:10.1021/jf00035a051.
 100. Meilgaard MC, Carr BT, Civille GV. *Sensory Evaluation Techniques*.; 1999. doi:10.1017/S1431927611002686.
 101. De Freitas VAP, Ramalho PS, Azevedo Z, Macedo A. Identification of some volatile descriptors of the rock-rose-like aroma of fortified red wines from Douro Demarcated region. *J Agric Food Chem*. 1999;47(10):4327-4331. doi:10.1021/jf9901035.
 102. Ortega-Heras M, González-SanJosé ML, Beltrán S. Aroma composition of wine studied by different extraction methods. In: *Analytica Chimica Acta*. Vol 458. ; 2002:85-93. doi:10.1016/S0003-2670(01)01526-4.

103. Baumes R.L., Bayonove C.L. GYZ. Connaissances actuelles sur le potentiel aromatique des muscats. *Prog Agric Vitic.* 1994;251-256.
104. Sánchez Palomo E, Díaz-Maroto Hidalgo MC, González-Viñas MÁ, Pérez-Coello MS. Aroma enhancement in wines from different grape varieties using exogenous glycosidases. *Food Chem.* 2005;92(4):627-635. doi:10.1016/j.foodchem.2004.08.025.
105. Reynolds AG, Vanden Heuvel JE. Influence of grapevine training systems on vine growth and fruit composition: A review. *Am J Enol Vitic.* 2009;60(3):251-268.
106. King ES. The modulation of Sauvignon Blanc wine aroma through control of primary fermentation. 2010;(July):152.
107. Rebolo S, Peña RM, Latorre MJ, García S, Botana AM, Herrero C. Characterisation of Galician (NW Spain) Ribeira Sacra wines using pattern recognition analysis. *Anal Chim Acta.* 2000;417(2):211-220. doi:10.1016/S0003-2670(00)00929-6.
108. Swiegers JH, Bartowsky EJ, Henschke PA, Pretorius IS. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Aust J Grape Wine Res.* 2005. doi:10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x.
109. Verzera A, Tripodi G, Dima G, et al. Leaf removal and wine composition of *Vitis vinifera* L. cv. Nero d'Avola: The volatile aroma constituents. *J Sci Food Agric.* 2016. doi:10.1002/jsfa.7075.
110. Coelho E, Rocha SM, Delgadillo I, Coimbra MA. Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during *Vitis vinifera* L. cv. "Baga" ripening. In: *Analytica Chimica Acta.* ; 2006. doi:10.1016/j.aca.2005.11.018.
111. Salinas MR, Zalacain A, Pardo F, Alonso GL. Stir bar sorptive extraction applied to volatile constituents evolution during *Vitis vinifera* ripening. *J Agric Food Chem.* 2004. doi:10.1021/jf040040c.
112. Chisholm MG, Wilson MA, Gaskey GM. Characterization of aroma volatiles in key lime essential oils (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Flavour Fragr J.* 2003. doi:10.1002/ffj.1172.
113. Vinholes J, Coimbra MA, Rocha SM. Rapid tool for assessment of C13 norisoprenoids in wines. *J Chromatogr A.* 2009. doi:10.1016/j.chroma.2009.09.061.
114. Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A. DD. *Varietal Aroma.* John Wiley. Handbook of Enology. Volume 2 – The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments; 2000.
115. Augustyn OPH, Rapp A. Aroma Components of *Vitis vinifera* L. cv. Chenin blanc Grapes and Their Changes During Maturation. *South African J Enol Vitic.* 1982.
116. Ghan R, Van Sluyter SC, Hochberg U, et al. Five omic technologies are concordant in differentiating the biochemical characteristics of the berries of five grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *BMC Genomics.* 2015. doi:10.1186/s12864-015-2115-y.
117. Bartowsky EJ, Henschke PA. The "buttery" attribute of wine - Diacetyl - Desirability, spoilage and beyond. *Int J Food Microbiol.* 2004. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.013.

118. Jarauta I, Cacho J, Ferreira V. Concurrent phenomena contributing to the formation of the aroma of wine during aging in oak wood: An analytical study. *J Agric Food Chem*. 2005. doi:10.1021/jf0481960.
119. Campo E, Cacho J, Ferreira V. The chemical characterization of the aroma of dessert and sparkling white wines (Pedro Ximénez, Fino, Sauternes, and Cava) by gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative analysis. *J Agric Food Chem*. 2008. doi:10.1021/jf072968l.
120. Pripis-Nicolau L, de Revel G, Bertrand a, Lonvaud-Funel a. Methionine catabolism and production of volatile sulphur compounds by *Oenococcus oeni*. *J Appl Microbiol*. 2004. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02257.x.
121. Swiegers JH, Kievit RL, Siebert T, et al. The influence of yeast on the aroma of Sauvignon Blanc wine. *Food Microbiol*. 2009. doi:10.1016/j.fm.2008.08.004.
122. Ferreira V, Ortín N, Escudero A, López R, Cacho J. Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *J Agric Food Chem*. 2002. doi:10.1021/jf0115645.
123. Tominaga T, Baltenweck-Guyot R, Peyrot des Gachons C, Dubourdieu D. Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *Am J Enol Vitic*. 2000.
124. Rocha S, Coutinho P, Barros A, Coimbra MA, Delgadillo I, Dias Cardoso A. Aroma potential of two Bairrada white grape varieties: Maria Gomes and Bical. *J Agric Food Chem*. 2000. doi:10.1021/jf000175s.
125. Perestrelo R, Fernandes A, Albuquerque FF, Marques JC, Câmara JS. Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: Identification of the main odorants compounds. In: *Analytica Chimica Acta*. ; 2006. doi:10.1016/j.aca.2005.10.023.
126. McRae JM, Kennedy JA. Wine and grape tannin interactions with salivary proteins and their impact on astringency: A review of current research. *Molecules*. 2011. doi:10.3390/molecules16032348.
127. Tannins T, Heartwood O. Their Influence on Wine Flavor. *Symp A Q J Mod Foreign Lit*. 1999.
128. Waterhouse AL. Wine phenolics. In: *Annals of the New York Academy of Sciences*. ; 2002. doi:10.1111/j.1749-6632.2002.tb02903.x.
129. Gallart M, Lopez-tamames E, Suberbiola G, Buxaderas S. Influence of fatty acids on wine foaming. *J Agric Food Chem*. 2002. doi:10.1021/jf0204452.
130. De Andrade Lima LL, Alexandre S, Guerra NB, Pereira GE, De Andrade Lima TL, Rocha H. Otimização e validação de método para determinação de ácidos orgânicos em vinhos por cromatografia líquida de alta eficiência. *Quim Nova*. 2010. doi:10.1590/S0100-40422010000500032.
131. Ishimoto E, Matias AC, Capriles VD, Baccarin A, Torres EA. Bagaço de uva como ingrediente funcional: elaboração e caracterização de sorbet e picolé. *Nutrire*. 2007.
132. Rustan AC. Fatty Acids: Structures and Properties. *Encycl life Sci*. 2009. doi:10.1002/9780470015902.a0022548.
133. Mato I, Suárez-Luque S, Huidobro JF. Simple determination of main organic

acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. *Food Chem.* 2007. doi:10.1016/j.foodchem.2006.05.002.

134. Carpenter, Roland P., Lyon, David H., Hasdell TA. *Guidelines for Sensory Analysis in Food Product Development and Quality Control.*; 2000.
135. Lawless HT, Heymann H. *Sensory Evaluation of Food.*; 2010. doi:10.1007/978-1-4419-6488-5.
136. Meilgaard M., Carr B., Civille G. *Sensory evaluation techniques.* CRC press. 2006.
137. Apuntes Científicos. Evaluacion sensorial. Evaluacion sensorial.
138. De Ávila LD. *Metodologias Analíticas Físico-Químicas: Laboratório de Enologia.*; 2002.
139. Giosanu D, Vijan LE, Deliu I. The analyse of physico-chemical parameters means to appreciate the typicity of some red wines. *Food Environ Saf.* 2011:31-35.
140. Silva Ferreira AC, De Pinho PG, Rodrigues P, Hogg T. Kinetics of oxidative degradation of white wines and how they are affected by selected technological parameters. *J Agric Food Chem.* 2002. doi:10.1021/jf0115847.
141. Boulton R. The Relationships between Total Acidity, Titratable Acidity and pH in Wine. *Vitis.* 1980.
142. Peynaud E. *Connaissance et Travail Du Vin.* (Dunod P, ed.); 1997.
143. Macêdo JAB. *Métodos Laboratoriais de Análises Físico-Químicas e Microbiológicas Águas e Águas.*; 2011.
144. Almeida CP de, Rocha JC, Caritá JS, Souza TM de A, Souza PV dos S. *Biotechnologia Na Produção de Alimentos.*; 2011.
145. Ribéreau-Gayon P. *The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments.*; 2000.

Regulamentos:

Portaria (CEE) nº 337/85. Disciplina a produção e comercialização de vinhos espumantes naturais e espumosos gaseificados. D.R.I Série. 127 (85-06-03)

Reg. (CE) nº. 491/2009 de 25 de Maio; Jornal Oficial da União Europeia nº. L 154/1; Comissão das Comunidades Europeias, Bruxelas (consultado em: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:154:0001:0056:PT:PDF>).

Reg. (CE) nº. 606/2009 de 10 de Julho; Jornal Oficial da União Europeia nº. L 193/1; Comissão das Comunidades Europeias, Bruxelas (consultado em: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:193:0001:0059:pt:PDF>).

ISSO/TS 22003:2007 Food safety management systems – Requirements for bodies providing audit and certification of food safety management systems.

Anexos

Ficha de prova de vinho branco

A presença ficha de prova tem como objetivo comparar duas amostras de vinhos branco. Classifique os diferentes atributos na escala de 1 a 5 (1- Inexistente, 2- Pouco intenso, 3- Medianamente Intenso, 4- Intenso, 5-Muito Intenso), exceto para os seguintes atributos:

- Qualidade da cor, Equilíbrio e Apreciação Global (1- Mediocre, 2- Satisfatório, 3- Bom, 4- Muito Bom, 5- Excelente)
- Persistência (1- Ausente, 2- Curto, 3- Razoavelmente Persistente, 4- Persistente, 5- Muito Persistente)

Avaliação Visual

C46

C3

Intensidade da Cor

Limpidez

Qualidade da Cor

Avaliação Olfativa

C46

C3

Intensidade

Aroma a floral

Aroma a vegetal frutado

Aroma a ervas e especiarias

Aroma a balsâmico

Aroma a madeira

Aroma a etérea (fermentação)

Aroma a químicos

Persistência

Avaliação Gustativa

C46

C3

Acidez

Doçura

Amargor

Álcool

Intensidade

Persistência

Qual a Amostra Preferida

C46 : ☐

C3: ☐

Observações:

Resultado da pontuação dada nos atributos sensoriais

Avaliação Visual	C46	C3
Intensidade da Cor	40	30
Limpidez	33	47
Qualidade da cor	41	34
Avaliação Olfativa		
Intensidade da Cor	41	28
Aroma a floral	17	25
Aroma a vegetal frutado	24	12
Aroma a vegetal e especiarias	12	16
Aroma a balsâmico	12	14
Aroma a madeira	13	12
Aroma a etérea/fermentação	25	13
Aroma a química	12	22
Persistência	29	29
Avaliação Gustativa		
Acidez	38	29
Doçura	14	21
Amargor	12	15
Álcool	35	44
Intensidade	46	31
Persistência	46	31